

**Chemische und pharmakologische
Untersuchungen an
C- und N-Mannich-Basen**

Volker Kühling

1971



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553801_0053

CHEMISCHE UND PHARMAKOLOGISCHE

UNTERSUCHUNGEN AN

C- UND N-MANNICH-BASEN

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde

der Fakultät für Chemie und Pharmazie

der Ludwig-Maximilians-Universität München



vorgelegt

von

Volker Kühling

aus

Osnabrück

München 1971



Berichterstatter:

1. Professor Dr. H. Schönenberger
2. Professor Dr. Dr. h. c. E. Bamann

Tag der mündlichen Prüfung: 7.7.1971

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München durchgeführt.

Die Anregung zu dieser Arbeit erhielt ich von

Herrn Professor Dr. H. Schönenberger,

dem ich für die wissenschaftliche Anleitung und Betreuung zu großem Dank verpflichtet bin.

Herrn Universitätsdozent Dr. A. Petter

danke ich für die wissenschaftliche Anleitung auf dem pharmakologischen Gebiet und seine unermüdliche Hilfsbereitschaft.

Ergebensten Dank schulde ich Herrn Professor Dr. Dr. h. c. E. Bamann und Herrn Professor Dr. H.-D. Stachel für die großzügige Förderung meiner Arbeit und für das jederzeit bekundete persönliche Interesse und Wohlwollen.

Herrn Dr. K. Gutschow gilt mein Dank für die Unterstützung bei den pharmakologischen Testungen.

Ich danke Herrn Professor Dr. Dr. h. c. K. Zipf für die Erlaubnis, einen großen Teil meiner pharmakologischen Arbeit an seinem Institut durchführen zu dürfen.





Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Untersuchungen über die Synthese und spasmolytische Wirkung quartärer acylierter Aminale	3
I. Synthese	3
II. Pharmakologische Prüfungen	6
1. Spasmolytische Wirkung	6
2. Mydriatische Wirkung	32
3. Weitere pharmakologische Prüfungen	36
4. Prüfung auf antimikrobielle und tumorhemmende Wirkung	37
III. Diskussion	40
C. Synthese von N-Benzamidomethyl- und N-Diphenylacetamido- methyl-phenylalkylaminen und ihre Prüfung auf Herz- und Kreislaufwirkung	43
I. Einführung und Problemstellung	43
II. Verbindungen vom Typ A	44
1. Synthese	45
2. Pharmakologische Prüfung	50
3. Betrachtungen zum Mechanismus der positiv inotropen Wirkung des Oxyfedrins	51
III. Verbindungen vom Typ B	54
IV. Verbindungen vom Typ C	56

D.	Synthese von Oxazolidinen des Norfenefrins und Prüfung auf Verwendbarkeit als chemische Retardform von Symphatomimetica	63
I.	Synthese	63
II.	Pharmakologische Prüfung	67
E.	Untersuchungen zur Synthese adrenomimetischer und antimikrobieller D, L 2-Amino-1-(3'-hydroxy-4'-alkylaminomethylphenyl)-äthan-1-ol-Derivate	68
I.	Theoretische Betrachtungen	68
II.	Synthese	70
F.	Experimenteller Teil	74
I.	N-Diphenylacetamidomethyl-trialkylammoniumjodide	74
1.	Synthese der tertiären acylierten Aminale	74
2.	Synthese der quartären acylierten Aminale	76
3.	Spektrophotometrische Bestimmung der Stabilität der Substanzen I_c und I_i	79
4.	Bestimmung der Dissoziationskonstanten des Rezeptor-Spasmogen-Komplexes K_S und der Hemmungskonstanten K_J	81
a)	Nach Lineweaver u. Burk (8)	
b)	Nach Dixon (9)	
II.	N-Benzamidomethyl- und N-Diphenylacetamidomethyl-phenylalkylamine	83
1.	Synthese der N-Hydroxymethyl-carbonsäureamide	83
2.	Synthese der N-Chlormethyl-carbonsäureamide	83
3.	Synthese der N-Carbonamidomethyl-phenylalkylamine	85

4.	Synthese der Bis-benzamidomethyl-phenylalkyl-amine	89
5.	Synthese des Acylierungsproduktes von Cystein	90
6.	Bestimmung der Dissoziationskonstanten	90
7.	Bestimmung der Hydrolyse	91
III.	Oxazolidine des Norfenefrins	92
1.	Synthese der Azomethine	92
2.	Synthese der Oxazolidine	92
IV.	D, L 2-Amino-1-(3'-hydroxy-4'-alkylaminomethyl-phenyl)-äthan-1-ol-Derivate	94
1.	Synthese des N-Phthalyl-norfenefrins	94
2.	Synthese des D, L N-Phthalyl-2-amino-1-(3'-hydroxy-4'-diäthylaminomethylphenyl)-äthan-1-ol	94
3.	Synthese der 2H-1,3-Benzoxazine	96
4.	Hydrazinolytische Abspaltung der Phthalylschutzgruppe	97
V.	Chromatographische Methoden	99
VI.	Pharmakologische Testungen	100
1.	Prüfung auf Spasmolyse am isolierten Darm	100
a)	Kumulative Dosis-Wirkungskurven mit ACH und Histamin	100
b)	Hemmung des BaCl ₂ -Spasmus	101
2.	Prüfung auf mydriatische Wirkung	102
3.	Prüfung auf Herzwirksamkeit am Meerschweinchenherzen	103
4.	Prüfung auf Blutdruckwirkung	104
a)	Blutdruck der Katze	104
b)	Blutdruck der Ratte	104
5.	Prüfung auf analgetische Wirkung	105

	Seite
6. Prüfung auf Antiparkinson-Wirkung	105
7. Prüfung auf carcinostatische Wirkung	106
a) Bestimmung der Toxizität	106
b) Prüfung am Yoshida-Sarkom der Ratte	106
8. Methodik der mikrobiologischen Testung	107
a) Nährmedium	107
b) Testung auf Fungistase	107
c) Testung auf Bakteriotase	108
G. Zusammenfassung	109
H. Literaturverzeichnis	111

A. EINLEITUNG

C- und N-Mannich-Basen besitzen verschiedenartige pharmakologische Eigenschaften. Eine ausführliche Literaturübersicht ist in der Dissertation Bastug (1) gegeben. C-Mannich-Basen zeichnen sich durch spasmolytische, analgetische, analeptische, nikotinartige, coronardilatierende, lokalanästhetische und antimikrobielle Wirkungen aus.

In unserem Arbeitskreis wurde der Wirkungsmechanismus antimikrobieller β -Aminoketone eingehend untersucht und auf die Acyläthylierung biologischer Substrate zurückgeführt. Die auf Grund dieser Feststellung durchgeführte Prüfung auf carcinostatische Wirkung ergab eine Hemmung bis zu 68 % am Yoshida Sarkom bzw. am Sarkom 180.

Von besonderem Interesse erwiesen sich aminomethylierte Stilböstrole, die sich durch eine spezifische Wirkung am Mammacarcinom auszeichnen (2). So war die Verbindung 3,3'-Bis-(piperidino-methyl)-4,4'-dihydroxy- α,β -diäthylstilben dem Endoxan[®] an Wirkung deutlich überlegen.

Im Gegensatz zu den C-Mannich-Basen ist über die Pharmakologie der N-Mannich-Basen nur wenig bekannt. Es werden sedative, spasmolytische und analeptische Eigenschaften erwähnt. Bindl (3) untersuchte die Wirkung von N-Piperidino-methyl-4-alkoxybenzamidin und stellte fest, daß sie sich durch ausgeprägte lokalanästhetische Eigenschaften auszeichnen.

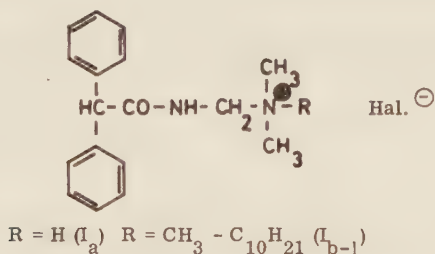
Umfangreiche Untersuchungen wurden weiterhin über die antimikrobiellen und tumorhemmenden Eigenschaften von Aminen und —N—C—X -Verbindungen (z. B. $\text{X} = \text{OH}$, N(R)_3 , S—CS—N(R)_2) angestellt (2, 3, 4, 5). Sie zeigten, daß die tumorhemmende Wirkung solcher Verbindungen auf einer Aminomethylierung biologischer Substrate beruht. Diese Untersuchungen wurden u. a. an dem Zytostatikum Cealysin[®] durchgeführt. Besonderes Interesse kommt den im Rahmen der vorstehenden Studien aufgefundenen acylierten Lost-Aminen zu, die sich gegenüber bekannten Zytostatica durch vergleichbare oder überlegene Wirkung auszeichnen (2, 3).

In Fortführung dieser Untersuchungen werden die Synthese neuer Aminale, die in struktureller Beziehung zu Oxyfedrin bzw. Contranul[®] stehen, beschrieben und ihre Herz-Kreislaufwirkung, ihre spasmolytischen, antimikrobiellen und tumorhemmenden Eigenschaften untersucht. Weiterhin werden neue C-Mannich-Basen und Oxazolidine des Norfenefrins synthetisiert und auf pharmakologische Eigenschaften geprüft.

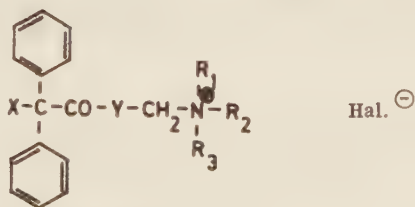
B. UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE SYNTHESE UND
 SPASMOLYTISCHE WIRKUNG QUARTÄRER ACYLIERTER
 AMINALE

I. SYNTHESE

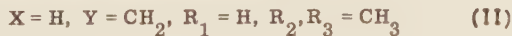
Aminale der Formel I_{a-1}



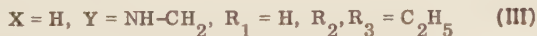
sind nicht beschrieben. Sie stehen strukturell in Beziehung zu Spasmolytica der folgenden Formeln:



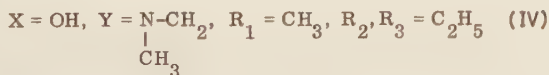
1, 1-Diphenyl-4 dimethylaminobutanon-(2)



Arpenal[®]



Contranul[®]

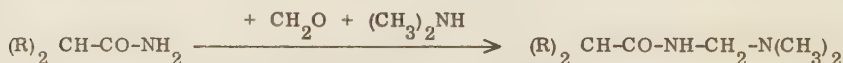


Für Spasmolytica mit atropinartiger Wirkung wie IV wird ein Antagonismus zu Acetylcholin angenommen (6). Als reaktive Zentren werden bei der Rezeptorverknüpfung für Spasmolytica und Acetylcholin der quartäre Stickstoff und die CO-Gruppe angesehen. Optimal wirksam sind spasmolytische Verbindungen mit 2 bzw. 3 CH_2 -Gliedern zwischen $-\overset{|}{\underset{|}{\text{N}}^{\oplus}}$ und CO.^{+) Bei Verbindungen mit 4 CH_2 -Gruppen wird keine cholinolytische Wirkung mehr gefunden.}

Substanzen mit einer CH_2 -Gruppe wie I_{b-1} wurden bisher nicht geprüft. Es soll am Beispiel von I_{b-1} untersucht werden, ob sich Verbindungen dieses Typs durch cholinolytische Wirkung auszeichnen.

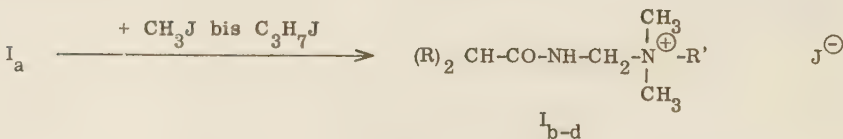
Die Synthese der N-Diphenylacetamidomethyl-dimethylalkylammoniumhalogenide erfolgte nach 2 Verfahren (Methode A und B):

METHODE A.



$\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$

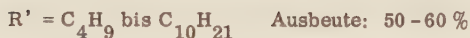
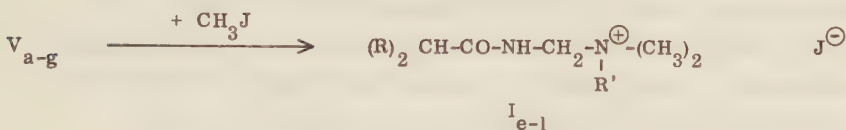
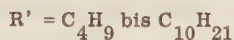
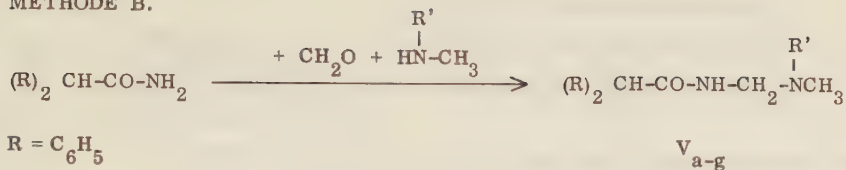
I_a



$\text{R}' = \text{CH}_3 \text{ bis } \text{C}_3\text{H}_7$ Ausbeute: 80 %

^{+) Nach A. M. Lands, J. Pharmacol. exp. Therapeut. 102, 219 (1951) sind in gebräuchlichen Spasmolytica beide Haftgruppen 4 - 8 Å entfernt.}

METHODE B.



Die tertiären Aminale I_a und V_{a-g} wurden durch mehrstündiges Erhitzen äquimolarer Mengen von Diphenylacetamid, Paraformaldehyd und sekundärem Amin in Äthanol gewonnen. Durch Umsetzung von I_a mit Methyl-, Äthyl- bzw. Propyljodid konnten die Verbindungen $\text{I}_{b,c,d}$ erhalten werden. Höhere Alkyljodide setzten sich mit I_a nicht um. Die Verbindungen I_{e-l} konnten jedoch durch Reaktion der N-Diphenylacetamidomethyl-dialkylamine V_{a-g} mit CH_3J erhalten werden (Methode B).

Die neuen Substanzen sind in Wasser nur sehr wenig löslich ($< 1 \%$). Auch nach viertägiger Lagerung dieser Lösungen konnte keine Zersetzung der Verbindungen beobachtet werden (siehe F I 3).

II. PHARMAKOLOGISCHE PRÜFUNGEN

1. Spasmolytische Wirkung

Die Substanzen zeigen ausgeprägte spasmolytische Eigenschaften.

Die Ermittlung des Hemmungstyps erfolgte am Acetylcholin-erregten Jejunum der Ratte. Für alle 10 Homologen wurden unter Verwendung von 3 Konzentrationen des Spasmolyticums kumulative Dosis-Wirkungskurven nach van Rossum u. van den Brink (7) aufgenommen (Abb. 1-10). Lediglich für die relativ schwach wirksamen Substanzen I_b , I_d und I_e wurde, um eine signifikante Zuordnung des Hemmstofftyps zu erreichen, noch in einer höheren Dosierung getestet (Abb. 1-4).

Die Spasmolytica wurden in folgenden Konzentrationen untersucht:

I.	$1,33 \times 10^{-6}$ Mol/l
II.	$2,66 \times 10^{-6}$ Mol/l
III.	$5,32 \times 10^{-6}$ Mol/l
IV.	$21,36 \times 10^{-6}$ Mol/l

Aus den so erstellten Dosis-Wirkungskurven wurden nach Lineweaver u. Burk (8) sowie nach Dixon (9) die Gleichgewichtskonstanten der Hemmreaktion ermittelt (Tab. 1 + 2).

Die Verbindungen I_{b-e} erwiesen sich als kompetitive, die Substanzen I_{f-l} als nicht-kompetitive Hemmstoffe.

Beim kompetitiven Typ konkurrieren der Hemmstoff und das Spasmogen um denselben Rezeptor. Durch fortlaufende Erhöhung der Konzentration des Spasmogens läßt sich der Inhibitor vom Rezeptor verdrängen und die maximale Kontraktionsstärke wieder herstellen; die Dosis-Wirkungskurve wird dabei lediglich in Richtung höherer Spasmogenkonzentrationen verschoben (Abb. 1-4).

Beim nichtkompetitiven Typ konkurriert der Hemmstoff und das Spasmogen auch um denselben Rezeptor; es besteht jedoch noch ein weiterer Angriffspunkt. Die Hemmstoffwirkung ist in diesem Falle durch Erhöhung der Spasmogenkonzentration nur teilweise aufhebbar. Es resultiert eine Herabsetzung der maximalen Kontraktionsstärke (Abb. 5-10).

Tab. 1: Hemmungskonstanten K_J der kompetitiv wirkenden Spasmolytica I_{b-e} (Acetylcholin-Spasmus).
Dissoziationskonstante für den Acetylcholin-Rezeptor-Komplex
 $K_S = 53,5 \times 10^{-8} \text{ M/l}$.

Inhibitor	K_J
Subst. I_b	$1,25 \times 10^{-6} \text{ M/l}$
Subst. I_c	$0,33 \times 10^{-6} \text{ M/l}$
Subst. I_d	$1,30 \times 10^{-6} \text{ M/l}$
Subst. I_e	$4,88 \times 10^{-6} \text{ M/l}$
Atropin	$0,03 \times 10^{-6} \text{ M/l}$

Tab. 2: Hemmungskonstanten K_J der nichtkompetitiv wirkenden Spasmolytica I_{f-l} (Acetylcholin-Spasmus).
Dissoziationskonstante für den Acetylcholin-Rezeptor-Komplex
 $K_S = 53,5 \times 10^{-8} \text{ M/l}$.

Inhibitor	K_J
Subst. I_f	$1,06 \times 10^{-6} \text{ M/l}$
Subst. I_g	$0,23 \times 10^{-6} \text{ M/l}$
Subst. I_h	$0,20 \times 10^{-6} \text{ M/l}$
Subst. I_i	$0,14 \times 10^{-6} \text{ M/l}$
Subst. I_k	$0,10 \times 10^{-6} \text{ M/l}$
Subst. I_l	$0,07 \times 10^{-6} \text{ M/l}$
Papaverin	$1,50 \times 10^{-6} \text{ M/l}$

Tab. 3: Affinitätskonstanten $\frac{1}{K_J}$ der Substanzen $I_b - I_l$

Inhibitor	Hemmungskonstante K_J	Affinität $\frac{1}{K_J}$	Affinität, bezogen auf Atropin = 100
Atropin	$0,03 \times 10^{-6}$	$33,33 \times 10^6$	100
I_b	$1,49 \times 10^{-6}$	$0,67 \times 10^6$	2,01
I_c	$0,33 \times 10^{-6}$	$3,00 \times 10^6$	9,00
I_d	$1,30 \times 10^{-6}$	$0,77 \times 10^6$	2,31
I_e	$4,88 \times 10^{-6}$	$0,20 \times 10^6$	6,60
I_f	$1,06 \times 10^{-6}$	$0,94 \times 10^6$	2,82
I_g	$0,23 \times 10^{-6}$	$4,35 \times 10^6$	13,05
I_h	$0,20 \times 10^{-6}$	$5,00 \times 10^6$	15,00
I_i	$0,14 \times 10^{-6}$	$7,14 \times 10^6$	21,41
I_k	$0,16 \times 10^{-6}$	$10,00 \times 10^6$	30,00
I_l	$0,07 \times 10^{-6}$	$14,29 \times 10^6$	42,87

Tab. 4: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern (f) unter der Einwirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-trialkylammonium-jodiden

Subst.	relative Kontraktionshöhe					
	ACH	ohne	unter Hemmstoff-Einwirkung			
	Konz. $\times 10^{-8}$ M/l	Hemmstoff	$1,33 \times 10^{-6}$ M/l	$2,66 \times 10^{-6}$ M/l	$5,32 \times 10^{-6}$ M/l	$21,28 \times 10^{-6}$ M/l
I_b	4	$7,4 \pm 0,5$	—	$2,8 \pm 0,9$	$1,1 \pm 0,4$	$0,6 \pm 0,3$
	16	$22,3 \pm 1,0$		$9,3 \pm 1,5$	$4,5 \pm 1,8$	$2,2 \pm 0,8$
	64	$57,1 \pm 3,7$		$36,4 \pm 4,4$	$19,1 \pm 3,9$	$5,7 \pm 1,8$
	256	$81,4 \pm 2,8$		$74,2 \pm 7,2$	$57,2 \pm 5,9$	$19,7 \pm 3,2$
	1024	$92,4 \pm 5,9$		$89,1 \pm 8,1$	$82,8 \pm 8,8$	$54,1 \pm 5,4$
	4096	$98,3 \pm 4,8$		$96,7 \pm 7,6$	$94,5 \pm 9,3$	$82,8 \pm 7,6$
I_c	4	$8,2 \pm 0,9$	$0,5 \pm 0,3$	$0,2 \pm 0,1$	—	—
	16	$21,3 \pm 2,2$	$2,6 \pm 0,8$	$0,7 \pm 0,3$	—	
	64	$56,0 \pm 2,2$	$11,4 \pm 2,5$	$3,9 \pm 1,1$	$1,2 \pm 0,3$	
	256	$80,6 \pm 2,9$	$51,0 \pm 4,5$	$26,1 \pm 1,2$	$10,2 \pm 1,6$	
	1024	$91,2 \pm 2,7$	$81,1 \pm 3,3$	$70,1 \pm 4,7$	$51,9 \pm 4,7$	
	4096	$96,7 \pm 2,2$	$93,4 \pm 3,4$	$87,5 \pm 4,4$	$81,4 \pm 4,4$	
I_d	4	$8,7 \pm 1,8$	—	—	—	—
	16	$22,5 \pm 1,6$			$6,5 \pm 2,8$	$0,8 \pm 0,3$
	64	$46,7 \pm 3,0$			$19,7 \pm 3,8$	$4,3 \pm 1,2$
	256	$79,0 \pm 3,0$			$57,7 \pm 5,9$	$16,1 \pm 5,9$
	1024	$93,8 \pm 3,2$			$87,7 \pm 6,2$	$55,5 \pm 7,3$
	4096	$98,9 \pm 3,2$			$97,6 \pm 6,2$	$81,1 \pm 8,4$
I_e	4	$10,1 \pm 0,8$	—	—	$8,4 \pm 2,0$	$7,0 \pm 0,4$
	16	$27,2 \pm 1,7$			$18,7 \pm 3,1$	$13,5 \pm 5,8$
	64	$62,7 \pm 2,3$			$45,8 \pm 3,4$	$28,3 \pm 6,4$
	256	$83,7 \pm 2,0$			$78,3 \pm 3,2$	$53,3 \pm 7,2$
	1024	$94,0 \pm 2,3$			$90,6 \pm 3,1$	$78,1 \pm 8,2$
	4096	$98,8 \pm 2,9$			$95,2 \pm 3,7$	$92,9 \pm 8,0$
I_f	4	$7,4 \pm 0,6$	—	$4,3 \pm 0,6$	$2,0 \pm 0,3$	—
	16	$17,2 \pm 1,1$		$11,9 \pm 0,3$	$6,3 \pm 2,5$	
	64	$41,2 \pm 1,9$		$31,8 \pm 2,7$	$20,9 \pm 2,9$	
	256	$71,3 \pm 2,5$		$65,1 \pm 2,4$	$49,6 \pm 2,2$	
	1024	$89,3 \pm 3,7$		$82,9 \pm 4,8$	$72,1 \pm 5,5$	
	4096	$97,0 \pm 4,0$		$90,1 \pm 6,2$	$79,4 \pm 6,3$	

Tab. 4: (Fortsetzung)

Subst.	relative Kontraktionshöhe				
	ACH	ohne	unter Hemmstoff-Einwirkung		
	Konz. $\times 10^{-8}$ M/l	Hemmstoff	$1,33 \times 10^{-6}$ M/l	$2,66 \times 10^{-6}$ M/l	$5,32 \times 10^{-6}$ M/l
I_g	4	$8,2 \pm 0,8$	$3,7 \pm 1,2$	$1,5 \pm 0,6$	—
	16	$19,1 \pm 1,5$	$10,2 \pm 2,0$	$5,9 \pm 1,0$	$3,3 \pm 0,7$
	64	$60,9 \pm 2,4$	$40,2 \pm 5,7$	$24,3 \pm 2,2$	$10,8 \pm 2,3$
	256	$89,3 \pm 4,8$	$81,9 \pm 8,2$	$63,8 \pm 4,6$	$39,4 \pm 6,5$
	1024	$97,2 \pm 5,7$	$96,1 \pm 9,8$	$81,4 \pm 9,7$	$62,5 \pm 6,2$
	4096	$99,5 \pm 6,1$	$98,9 \pm 8,3$	$84,7 \pm 8,4$	$67,3 \pm 6,7$
I_h	4	$8,3 \pm 1,1$	—	—	—
	16	$22,6 \pm 2,6$	$8,2 \pm 4,0$	—	—
	64	$57,4 \pm 4,3$	$21,0 \pm 9,8$	$6,6 \pm 2,7$	$1,5 \pm 0,5$
	256	$84,5 \pm 4,6$	$50,9 \pm 7,8$	$26,5 \pm 6,2$	$4,3 \pm 1,6$
	1024	$97,7 \pm 4,8$	$79,1 \pm 8,4$	$58,7 \pm 8,3$	$21,0 \pm 6,2$
	4096	$98,9 \pm 4,2$	$88,0 \pm 9,3$	$80,3 \pm 7,4$	$40,1 \pm 8,4$
I_i	4	$14,8 \pm 2,0$	$7,2 \pm 2,4$	—	—
	16	$28,9 \pm 3,3$	$14,5 \pm 3,7$	$6,3 \pm 3,1$	—
	64	$49,9 \pm 3,1$	$37,6 \pm 7,9$	$18,4 \pm 4,6$	—
	256	$75,6 \pm 3,6$	$63,6 \pm 7,6$	$42,1 \pm 5,6$	$2,0 \pm 2,0$
	1024	$93,5 \pm 3,3$	$82,5 \pm 8,2$	$64,1 \pm 6,8$	$6,1 \pm 1,6$
	4096	$99,9 \pm 3,4$	$90,4 \pm 8,5$	$75,4 \pm 6,5$	$16,2 \pm 2,7$
I_k	4	$22,0 \pm 2,1$	$8,9 \pm 2,4$	$4,9 \pm 1,5$	—
	16	$41,2 \pm 3,3$	$20,1 \pm 4,5$	$13,6 \pm 2,7$	$1,7 \pm 0,1$
	64	$66,7 \pm 2,9$	$41,8 \pm 6,6$	$27,8 \pm 3,1$	$6,9 \pm 2,2$
	256	$87,4 \pm 4,8$	$64,5 \pm 8,5$	$47,0 \pm 4,1$	$14,5 \pm 4,0$
	1024	$96,7 \pm 5,7$	$78,6 \pm 7,2$	$62,3 \pm 4,4$	$24,6 \pm 6,0$
	4096	$99,8 \pm 6,2$	$86,0 \pm 7,6$	$72,5 \pm 5,6$	$36,0 \pm 6,8$
I_l	4	$11,0 \pm 0,9$	$3,4 \pm 0,7$	—	—
	16	$23,6 \pm 2,7$	$6,4 \pm 0,7$	$2,8 \pm 0,5$	—
	64	$55,9 \pm 4,4$	$19,5 \pm 2,2$	$8,5 \pm 0,9$	$2,6 \pm 0,4$
	256	$84,6 \pm 4,3$	$39,2 \pm 3,8$	$18,8 \pm 1,6$	$7,3 \pm 0,9$
	1024	$96,1 \pm 4,6$	$56,2 \pm 5,7$	$28,7 \pm 2,3$	$13,6 \pm 0,7$
	4096	$98,2 \pm 4,2$	$65,4 \pm 7,5$	$34,6 \pm 2,8$	$18,7 \pm 1,2$

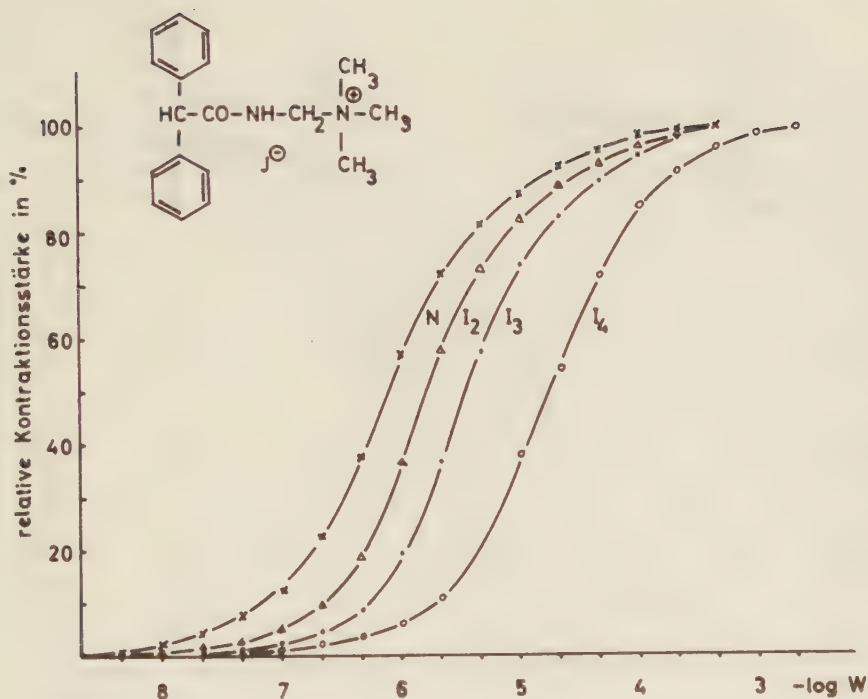


Abb. 1: Wirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-trimethylammoniumjodid. Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; I_2 bei $2,66 \times 10^{-6}$ M/l, I_3 bei $5,32 \times 10^{-6}$ M/l und I_4 bei $21,36 \times 10^{-6}$ M/l Hemmstoffzusatz.

Abszisse: Molare Acetylchlinkonzentration (W) in negativ logarithmischer Einteilung.

Ordinate: Kontraktionsstärke in Prozent relativ zu der durch Acetylcholin hervorgerufenen Maximalkontraktion.

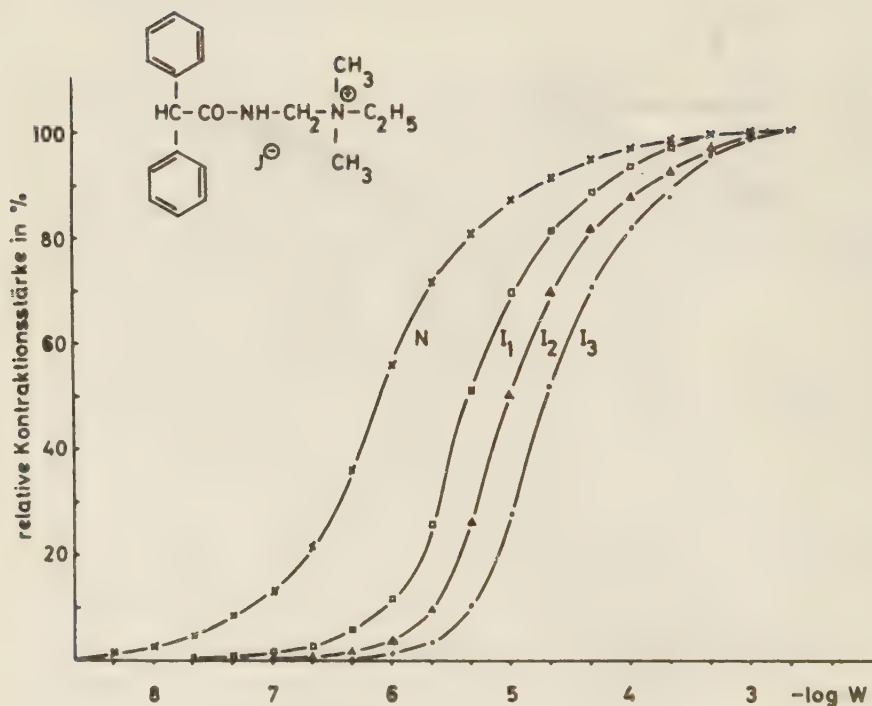


Abb. 2: Wirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyl-äthylammoniumjodid. Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; I_1 bei $1,35 \times 10^{-6}$ M/l, I_2 bei $2,66 \times 10^{-6}$ M/l und I_3 bei $5,32 \times 10^{-6}$ M/l Hemmstoffzusatz.

Abszisse: Molare Acetylcholinkonzentration (W) in negativ logarithmischer Einteilung.

Ordinate: Kontraktionsstärke in Prozent relativ zu der durch Acetylcholin hervorgerufenen Maximalkontraktion.

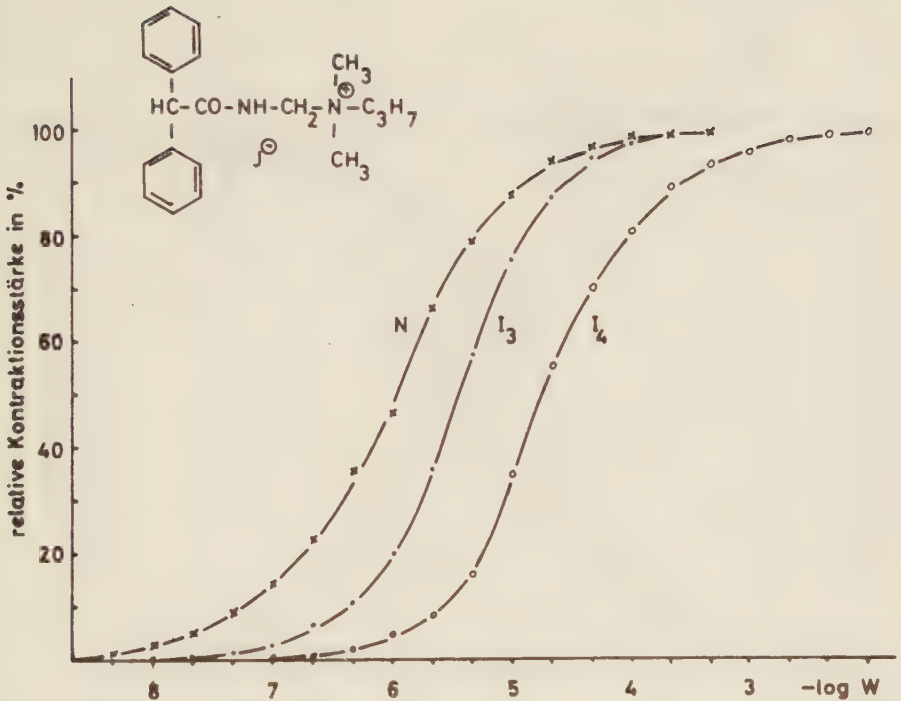


Abb. 3: Wirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyl-propylammoniumjodid. Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; I₃ bei $5,32 \times 10^{-6}$ M/l und I₄ bei $21,36 \times 10^{-6}$ M/l Hemmstoffzusatz.

Abszisse: Molare Acetylcholinkonzentration (W) in negativ logarithmischer Einteilung.

Ordinate: Kontraktionsstärke in Prozent relativ zu der durch Acetylcholin hervorgerufenen Maximalkontraktion.

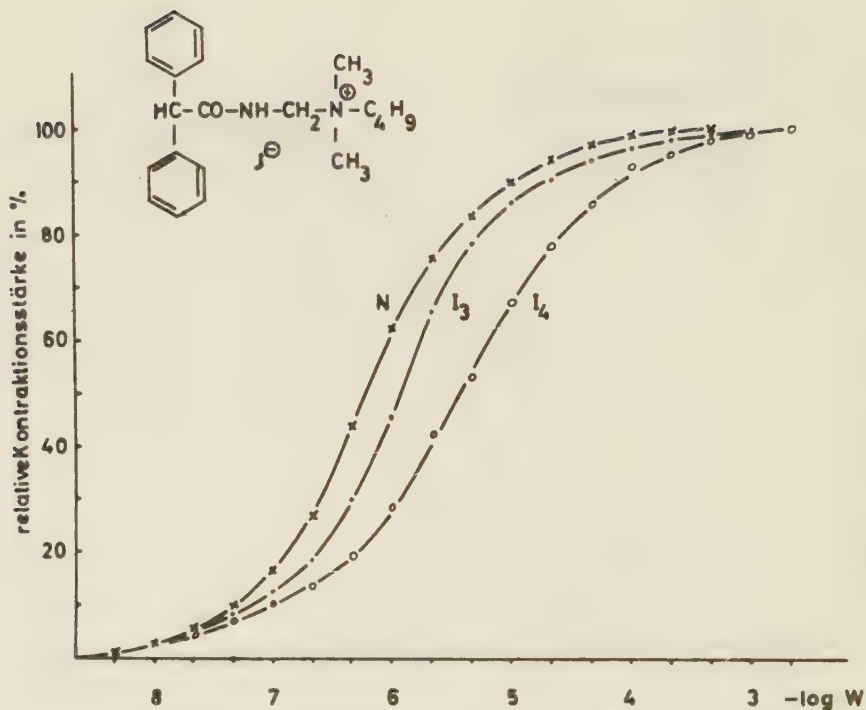


Abb. 4: Wirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-dimethylbutylammoniumjodid. Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; I₃ bei $5,32 \times 10^{-6}$ M/l und I₄ bei $21,36 \times 10^{-6}$ M/l Hemmstoffzusatz.

Abszisse: Molare Acetylcholinkonzentration (W) in negativ logarithmischer Einteilung.

Ordinate: Kontraktionsstärke in Prozent relativ zu der durch Acetylcholin hervorgerufenen Maximalkontraktion.

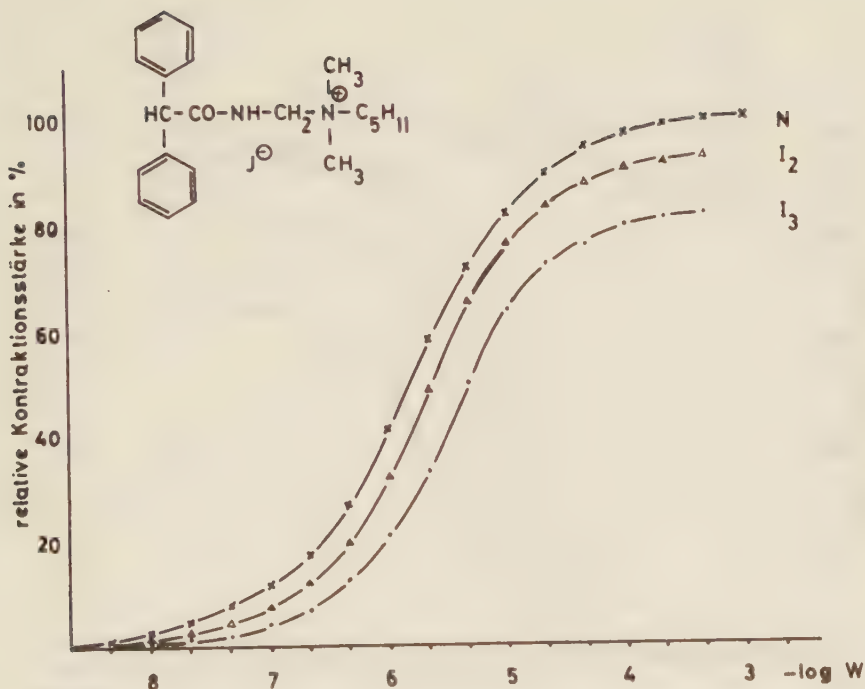


Abb. 5: Wirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyl-pentylammoniumjodid. Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; I_2 bei $2,66 \times 10^{-6}$ M/l und I_3 bei $5,32 \times 10^{-6}$ M/l Hemmstoffzusatz.

Abszisse: Molare Acetylcholinkonzentration (W) in negativ logarithmischer Einteilung.

Ordinate: Kontraktionsstärke in Prozent relativ zu der durch Acetylcholin hervorgerufenen Maximalkontraktion.

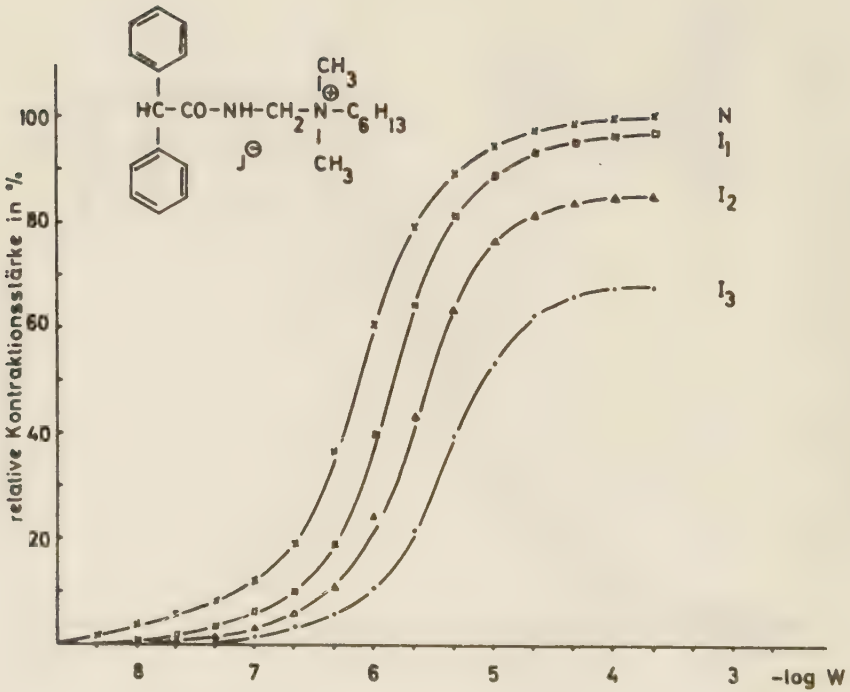


Abb. 6: Wirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyl-hexylammoniumjodid. Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; I₁ bei $1,35 \times 10^{-6}$ M/l, I₂ bei $2,66 \times 10^{-6}$ M/l und I₃ bei $5,32 \times 10^{-6}$ M/l Hemmstoffzusatz.

Abszisse: Molare AcetylcholinKonzentration (W) in negativ logarithmischer Einteilung.

Ordinate: Kontraktionsstärke in Prozent relativ zu der durch Acetylcholin hervorgerufenen Maximalkontraktion.

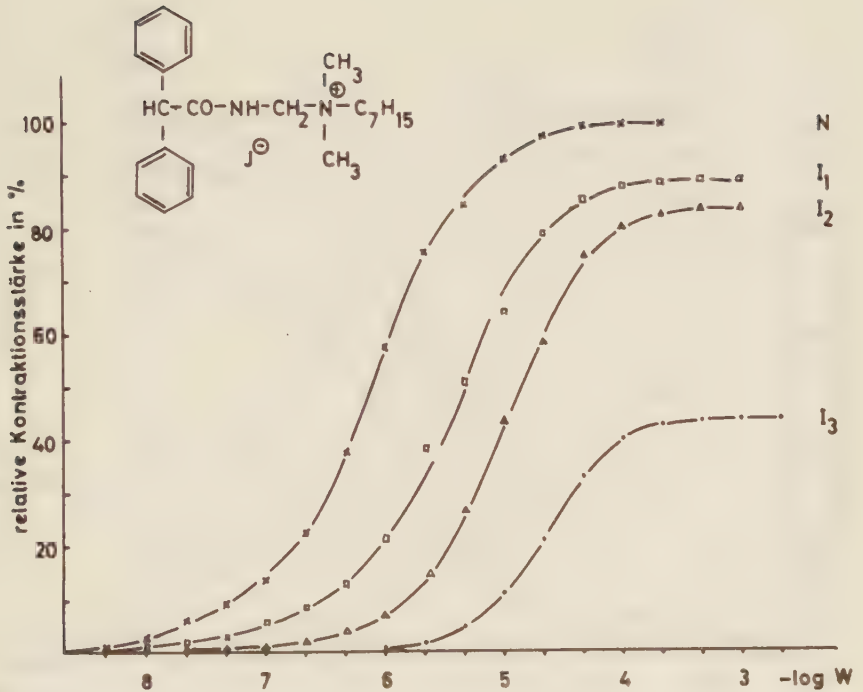


Abb. 7: Wirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyl-heptylammoniumjodid. Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; I₁ bei $1,35 \times 10^{-6}$ M/l, I₂ bei $2,66 \times 10^{-6}$ M/l und I₃ bei $5,32 \times 10^{-6}$ M/l Hemmstoffzusatz.

Abszisse: Molare AcetylcholinKonzentration (W) in negativ logarithmischer Einteilung.

Ordinate: Kontraktionsstärke in Prozent relativ zu der durch Acetylcholin hervorgerufenen Maximalkontraktion.

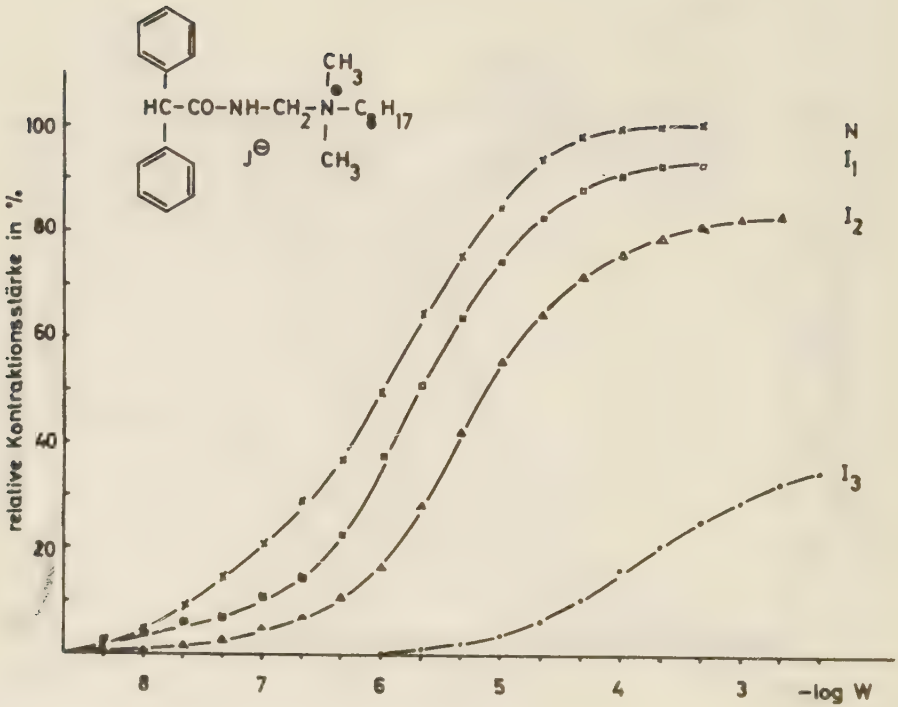


Abb. 8: Wirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyloctylammoniumjodid. Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; I_1 bei $1,35 \times 10^{-6}$ M/l, I_2 bei $2,66 \times 10^{-6}$ M/l und I_3 bei $5,32 \times 10^{-6}$ M/l Hemmstoffzusatz.

Abszisse: Molare AcetylcholinKonzentration (W) in negativ logarithmischer Einteilung.

Ordinate: Kontraktionsstärke in Prozent relativ zu der durch Acetylcholin hervorgerufenen Maximalkontraktion.

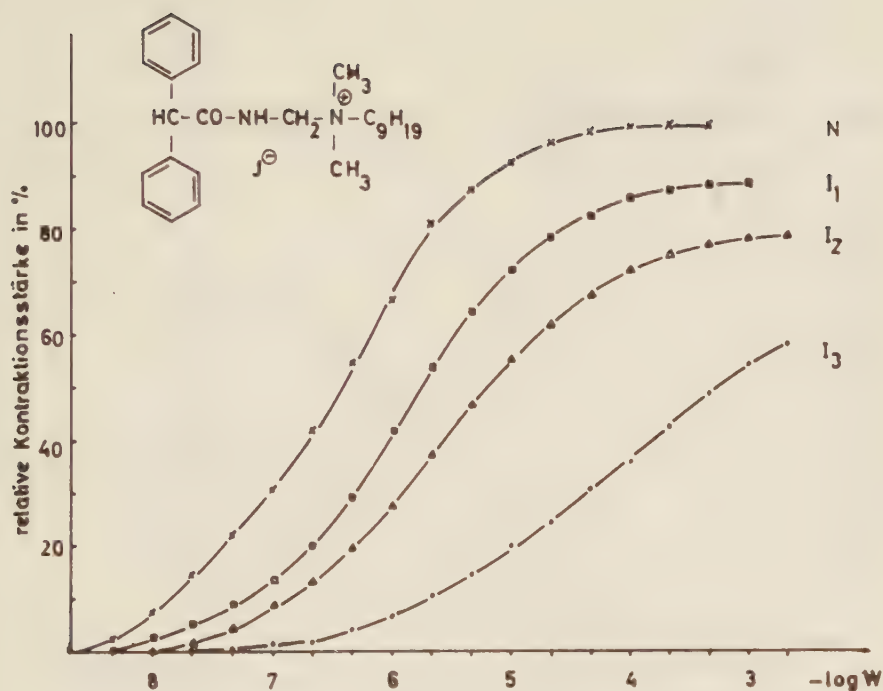


Abb. 9: Wirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-dimethylnonylammoniumjodid. Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; I₁ bei $1,35 \times 10^{-6}$ M/l, I₂ bei $2,66 \times 10^{-6}$ M/l und I₃ bei $5,32 \times 10^{-6}$ M/l Hemmstoffzusatz.

Abszisse: Molare Acetylcholinkonzentration (W) in negativ logarithmischer Einteilung.

Ordinate: Kontraktionsstärke in Prozent relativ zu der durch Acetylcholin hervorgerufenen Maximalkontraktion.

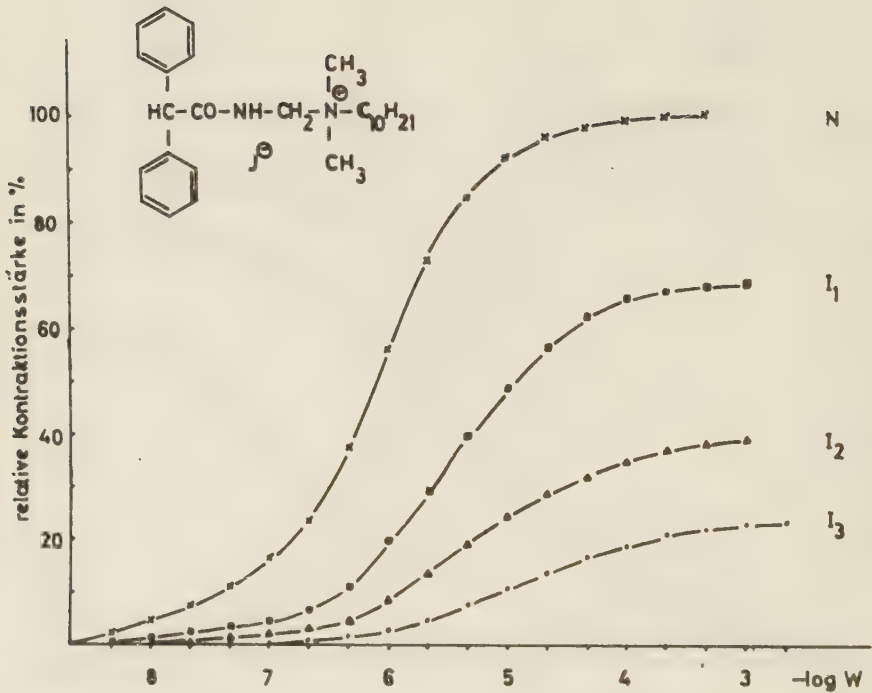


Abb. 10: Wirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyl-decylammoniumjodid. Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; I₁ bei $1,35 \times 10^{-6}$ M/l, I₂ bei $2,66 \times 10^{-6}$ M/l und I₃ bei $5,32 \times 10^{-6}$ M/l Hemmstoffzusatz.

Abszisse: Molare AcetylcholinKonzentration (W) in negativ logarithmischer Einteilung.

Ordinate: Kontraktionsstärke in Prozent relativ zu der durch Acetylcholin hervorgerufenen Maximalkontraktion.



Abb. 11: Ermittlung der Hemmungskonstanten K_J für N-Diphenyl-acetamidomethyl-dimethylpentylammoniumjodid nach Dixon.

Abszisse: Molare Inhibitorkonzentration J

Ordinate: Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

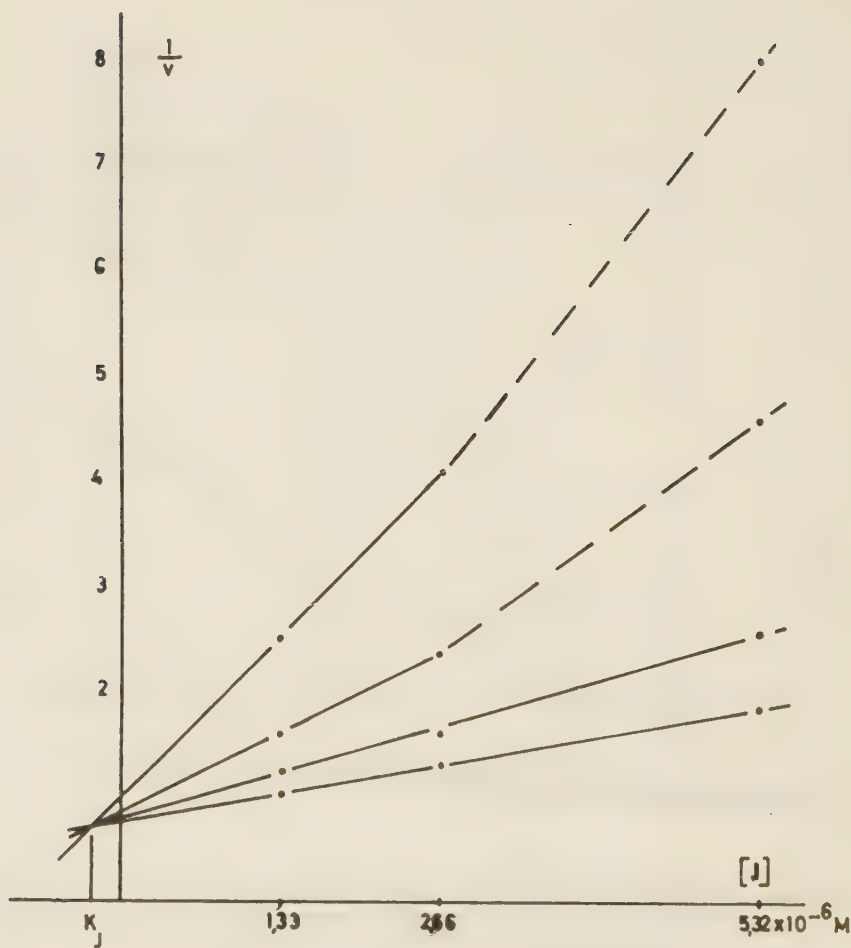


Abb. 12: Ermittlung der Hemmungskonstanten K_J für N-Diphenylacetamidomethyl-dimethylhexylammoniumjodid nach Dixon.

Abzisse: Molare Inhibitorkonzentration J

Ordinate: Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

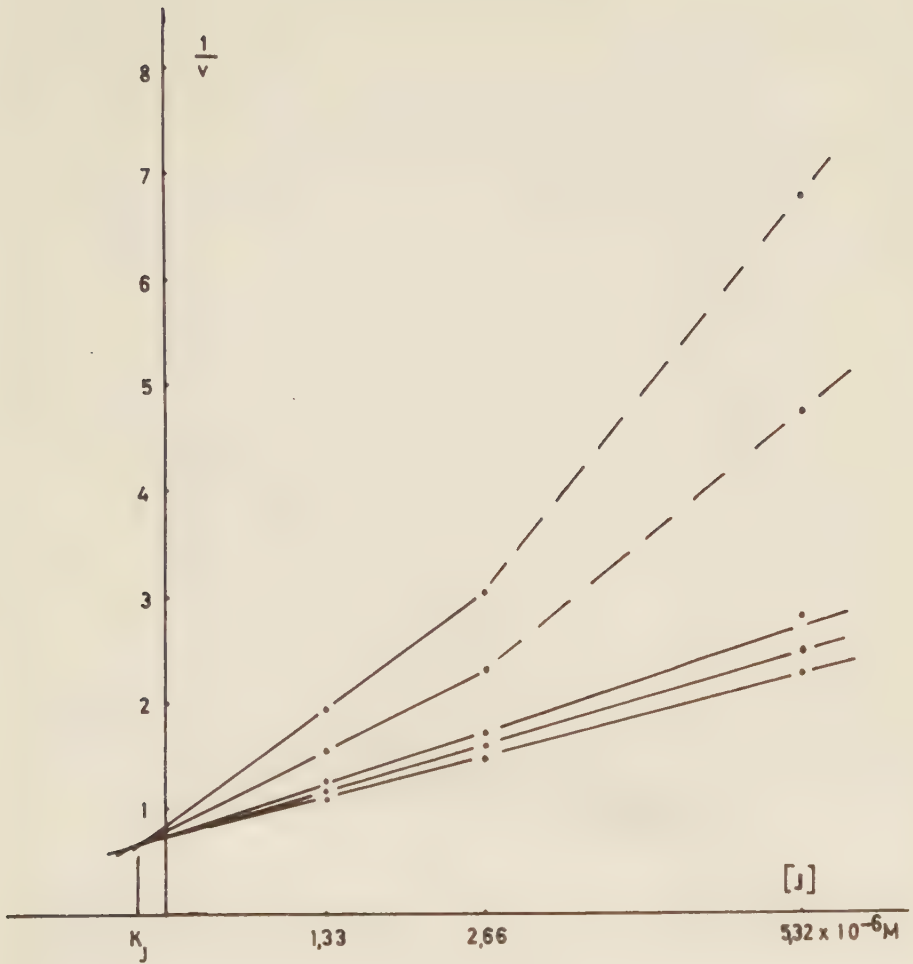


Abb. 13: Ermittlung der Hemmungskonstanten K_J für N-Diphenyl-acetamidomethyl-dimethylheptylammoniumjodid nach Dixon.

Abszisse: Molare InhibitorKonzentration J

Ordinate: Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

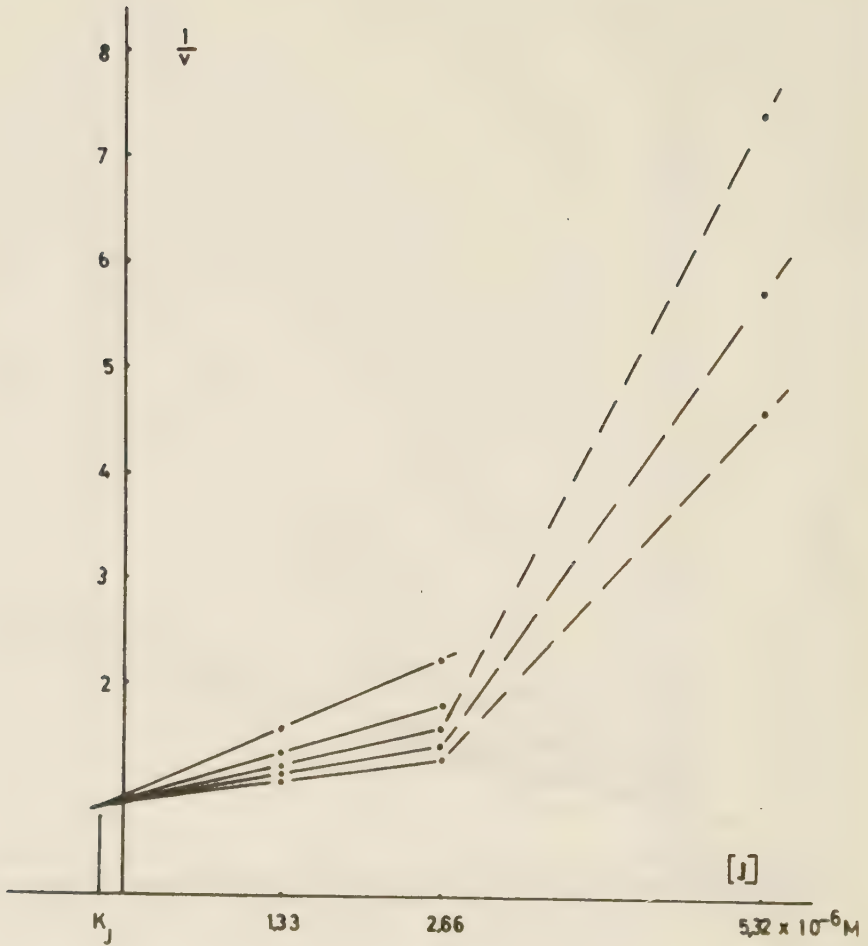


Abb. 14: Ermittlung der Hemmungskonstanten K_J für N-Diphenyl-acetamidomethyl-dimethyloctylammoniumjodid nach Dixon.

Abzisse: Molare Inhibitorkonzentration J

Ordinate: Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

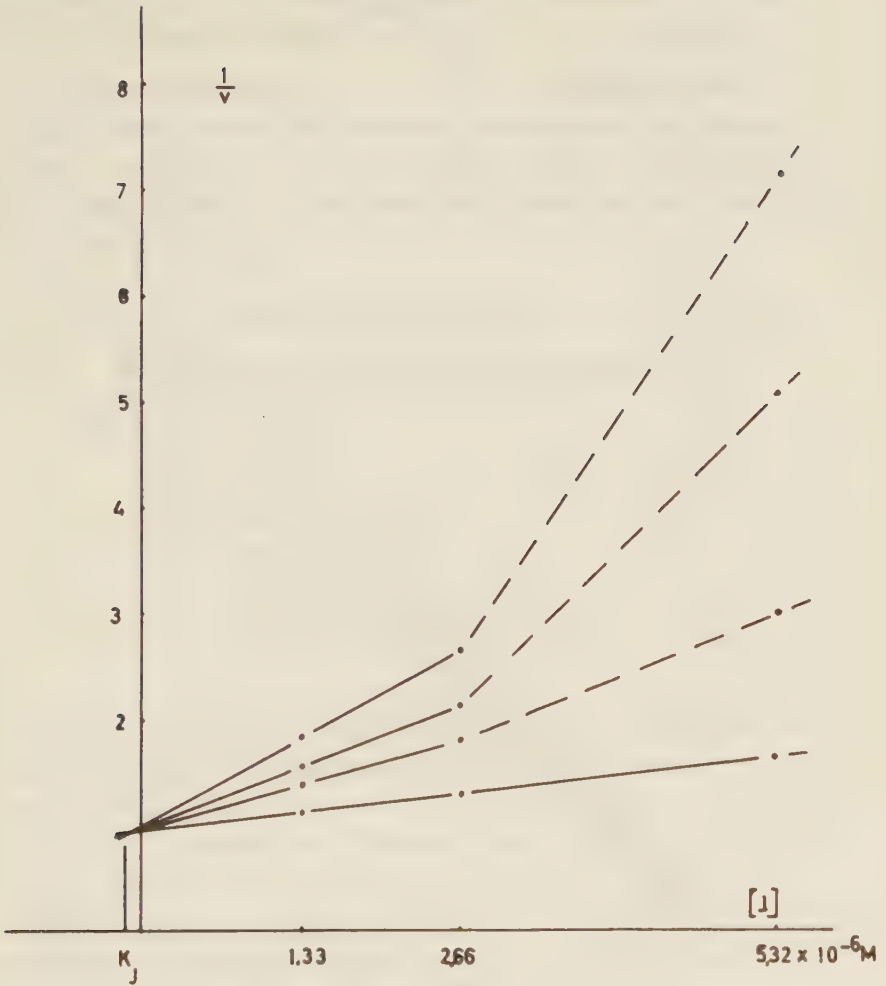


Abb. 15: Ermittlung der Hemmungskonstanten K_J für N-Diphenyl-acetamidomethyl-dimethylnonylammoniumjodid nach Dixon.

Abszisse: Molare InhibitorKonzentration J

Ordinate: Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

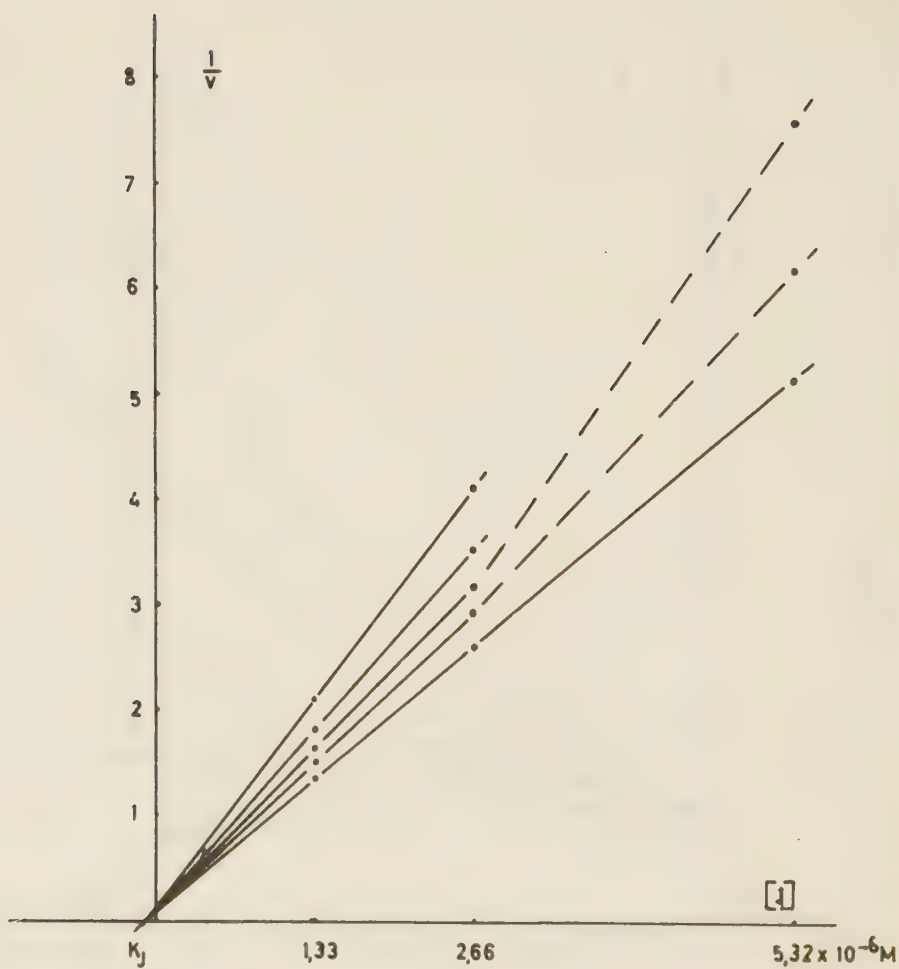


Abb. 16: Ermittlung der Hemmungskonstanten K_J für N-Diphenyl-acetamidomethyl-dimethyldecylammoniumjodid nach Dixon.

Abszisse: Molare Inhibitorkonzentration J

Ordinate: Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

Als wirksamster Vertreter der kompetitiven Hemmstoffe erreicht I_c 1/10 und I_l als beste Verbindung des nichtkompetitiven Typs 4/10 der Atropinwirkung.

Die interessantesten Substanzen I_c und I_l prüften wir ergänzend am isolierten Meerschweinchen-Ileum auf ihre hemmende Wirkung gegenüber dem Histamin-Spasmus. Dabei erwies sich I_c als wirkungslos. Substanz I_l zeigte jedoch eine Hemmwirkung, die der am Acetylcholin-Spasmus erzielten vergleichbar war; sie ist nichtkompetitiv (Abb. 17).

Tab. 5: Hemmungskonstanten K_J der Spasmolytica I_c und I_l (Histamin-Spasmus)
Dissoziationskonstante für den Histamin-Rezeptor-Komplex
 $K_S = 51 \times 10^{-8} \text{ M/l}$.

Inhibitor	K_J
Subst. I_c	—
Subst. I_l	$5,5 \times 10^{-8} \text{ M/l}$

Am BaCl_2 -Spasmus waren I_c und I_d in den gleichen Konzentrationen wie am Acetylcholin-erregten Darm wirksam (Abb. 18 u. 19). Da mit BaCl_2 weder am Meerschweinchen-Ileum noch am Ratten-Jejunum eine Dosis-Wirkungskurve zu erstellen war, ermittelten wir die spasmolytische Wirkung bei einmaliger Gabe von BaCl_2 . Es wurde die prozentuale Hemmung des Spasmus bei Zusatz des Hemmstoffs ermittelt. Um einen Vergleich des BaCl_2 -antagonistischen Effekts mit der cholinolytischen Wirkung zu ermöglichen, wurde die Hemmung von I_c und I_l gegenüber äquieffektiven Acetylcholin und BaCl_2 -Dosen ermittelt.

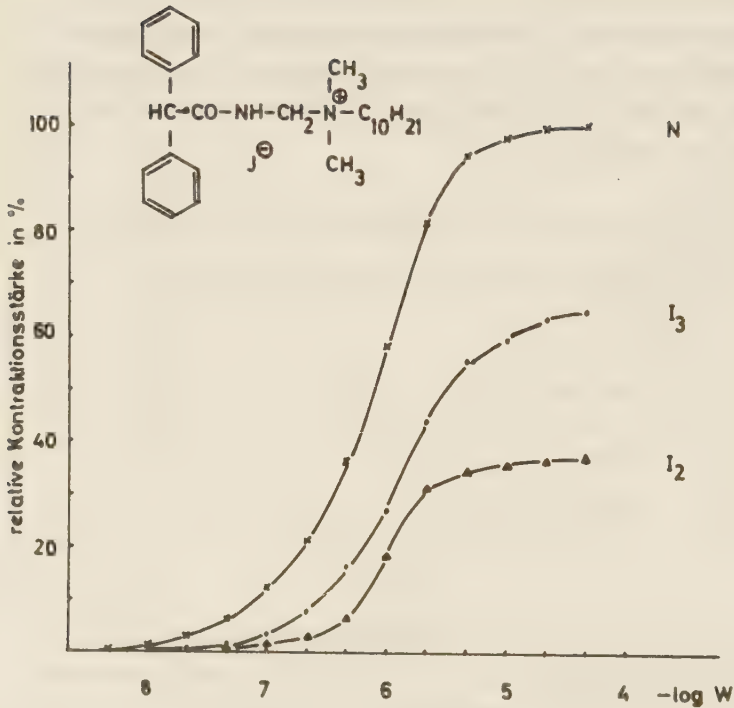


Abb. 17: Wirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyl-decylammoniumjodid. Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Histamin am Meerschweinchen-Ileum in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; I₃ bei $0,67 \times 10^{-6}$ M/l und I₂ bei $2,0 \times 10^{-6}$ M/l Hemmstoffzusatz.

Abszisse: Molare Histaminkonzentration (W) in negativ logarithmischer Einteilung.

Ordinate: Kontraktionsstärke in Prozent relativ zu der durch Histamin hervorgerufenen Maximalkontraktion.

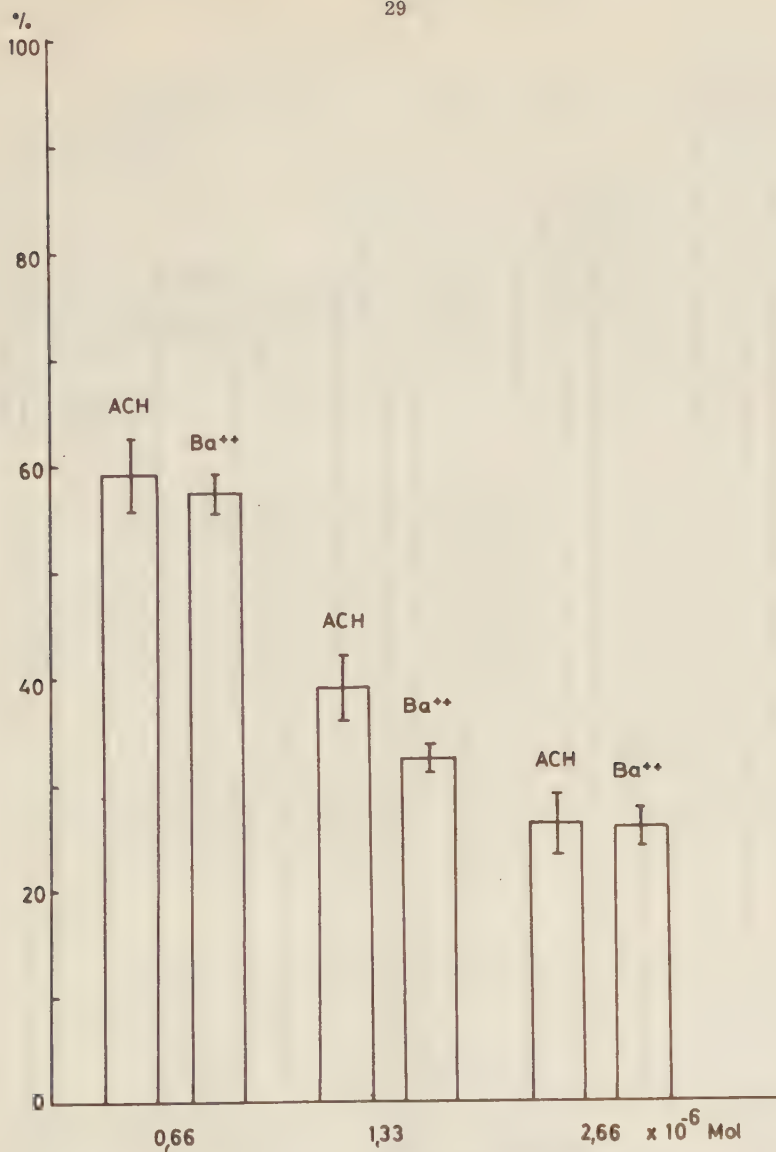


Abb. 18: Vergleichende Darstellung der Hemmwirkung von N-Diphenyl-acetamidomethyl-dimethyldecylammoniumjodid gegenüber äquieffektiven Dosen von Acetylcholin und BaCl₂.

Abszisse: Inhibitorkonzentration in Mol/l

Ordinate: Hemmung der Spasmusstärke in %, bezogen auf den ungehemmten Spasmus = 100 %

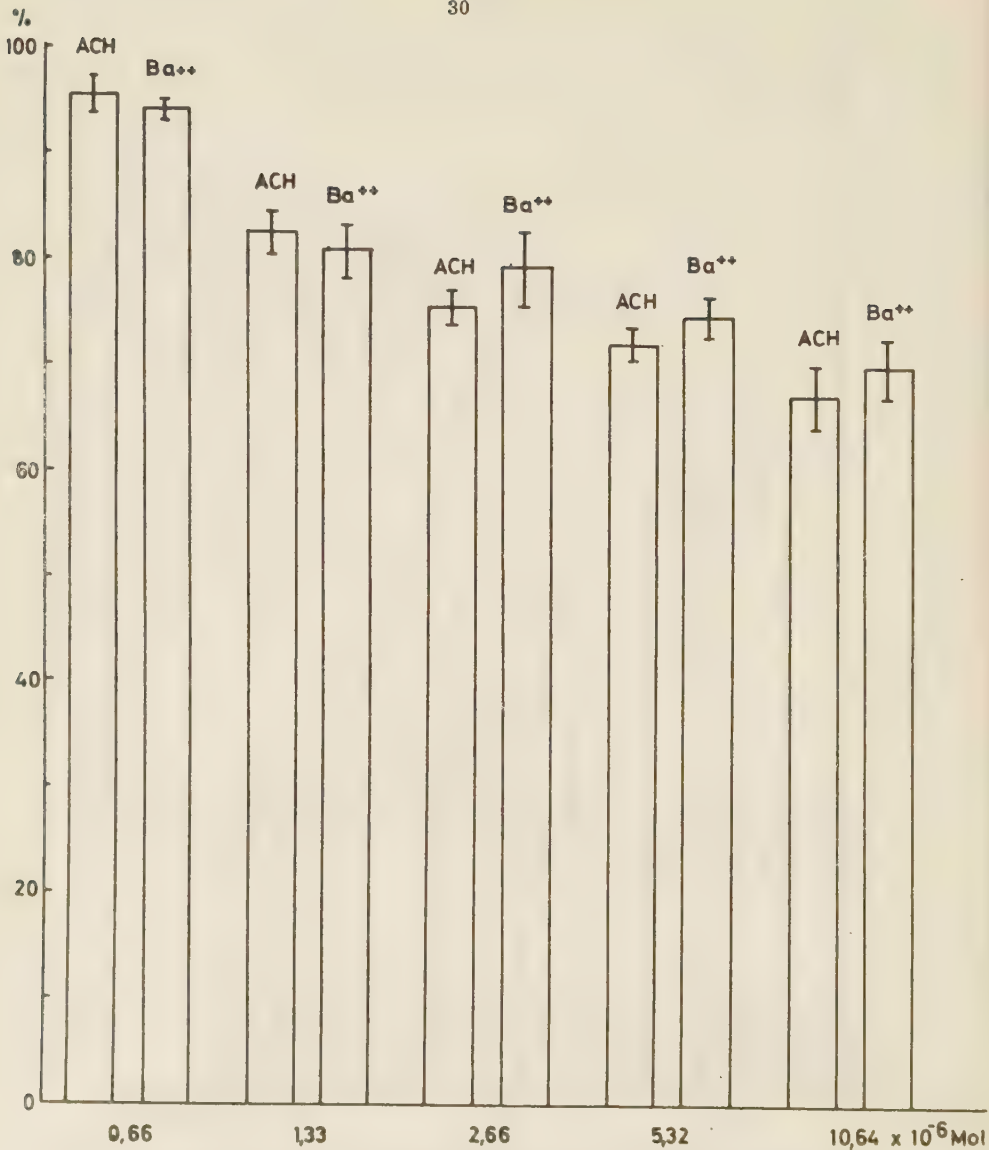


Abb. 19: Vergleichende Darstellung der Hemmwirkung von N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyläthylammoniumjodid gegenüber äquieffektiven Dosen von Acetylcholin und BaCl₂.

Abszisse: Inhibitorkonzentration in Mol/l

Ordinate: Hemmung der Spasmusstärke in %, bezogen auf den ungehemmten Spasmus = 100 %

Tab. 6: Spasmolytische Wirkung von Subst. I_c und I₁ am ACH- und BaCl₂-Spasmus

Hemmstoff Konzentr. $\times 10^{-6}$ M	Spasmusstärke in cm				Hemmung in %		Stich- proben Umfang n	Irrtumswahrsch. (t-Test) p	
	ungehemmt		gehemmt		ACH	Ba		ACH	Ba
	ACH	Ba	ACH	Ba					
Substanz I _c									
0,66	12,45 +0,53	12,88 +0,64	11,88 +0,52	12,13 +0,86	4,58 +1,65	5,82 +0,76	6	< 0,6	< 0,7
1,33	12,38 +1,33	12,63 +1,72	10,26 +0,99	10,26 +1,80	17,12 +1,58	18,77 +2,78	6	< 0,05	< 0,05
2,66	13,41 +1,53	13,33 +1,24	10,11 +1,42	10,53 +1,17	24,61 +1,47	21,01 +3,88	6	< 0,005	< 0,05
5,32	14,97 +1,84	14,41 +1,34	10,83 +1,64	10,76 +1,26	27,66 +1,49	25,33 +1,66	6	< 0,001	< 0,005
10,64	15,66 +1,85	15,21 +0,83	10,51 +2,84	10,61 +1,35	32,89 +2,36	30,24 +3,19	6	< 0,005	< 0,005
Substanz I ₁									
0,66	12,10 +0,85	12,50 +1,04	7,18 +0,33	7,21 +1,00	40,66 +3,60	42,32 +1,63	6	< 0,05	< 0,001
1,33	13,92 +2,47	14,94 +1,82	5,48 +3,73	4,86 +2,73	60,63 +3,13	67,47 +1,24	6	< 0,001	< 0,001
2,66	12,03 +1,67	12,43 +2,80	3,17 +0,77	3,24 +1,50	73,65 +3,16	73,94 +1,66	6	< 0,001	< 0,001

2. Mydriatische Wirkung

Zur Feststellung der mydriatischen Nebenwirkung von I_{b-1} wurden gleichfalls Untersuchungen vorgenommen. Die Prüfung erfolgte an der Pupille der weißen Maus nach der von Pulewka (10) beschriebenen Methode. Als Vergleichssubstanz wurde Atropin verwendet. Die ED_{50} , d. h. diejenige Dosis, bei der 50 % von der maximalen Pupillenerweiterung hervorgerufen werden, konnte nur bei den Substanzen I_{b-d} direkt bestimmt werden. Die Ermittlung der halbmaximalen Pupillenerweiterung war bei I_e und I_f nicht möglich, da in diesem Konzentrationsbereich bereits toxische Wirkungen auftraten. Hier erfolgte die Bestimmung der ED_{50} durch graphische Extrapolation (Abb. 20).

Die in Abb. 21 dargestellten Ergebnisse zeigen, daß die am Acetylcholin-Spasmus kompetitiv wirkenden Verbindungen I_{b-e} deutlich mydriatische Eigenschaften aufweisen. Mit der am besten kompetitiv wirkenden Verbindung I_c konnte die maximale Erweiterung der Pupille erreicht werden. Von den nichtkompetitiv wirksamen Substanzen zeigte nur I_f noch eine schwache mydriatische Wirkung. Durch weitere Verlängerung der Alkylkette am Stickstoff (I_{g-l}) kommt es zum Verlust des mydriatischen Nebeneffekts.

Gleichartige Befunde wurden von Engelhardt (11) bei verschiedenartigen Estern homologer 2-Hydroxyäthyl-dimethyl-alkyl-ammoniumchloride erzielt.

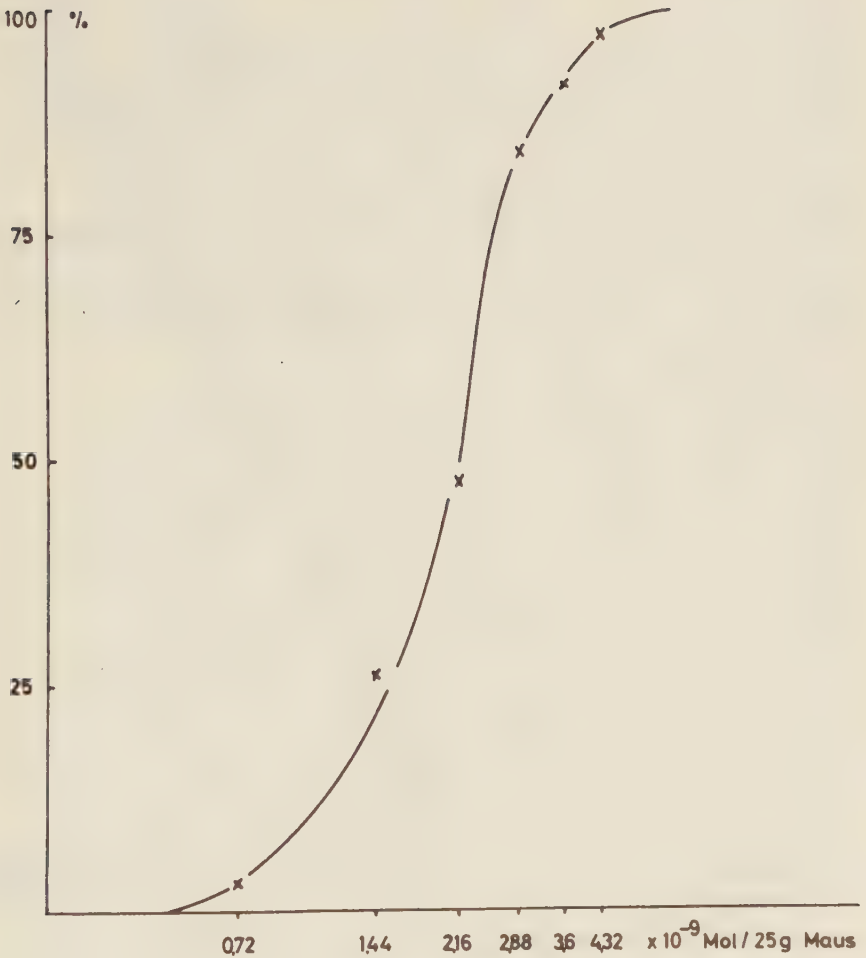


Abb. 20: Quantitative Beziehung zwischen der molaren Atropin-Dosis pro 25 g Maus und der mydriatischen Wirkung nach i. p. Injektion.

Abszisse: Logarithmus der molaren Dosis von Atropin pro 25 g Maus.
 Ordinate: Pupillenerweiternde Wirkung von Atropin relativ zum Ausgangswert. Angaben in %.

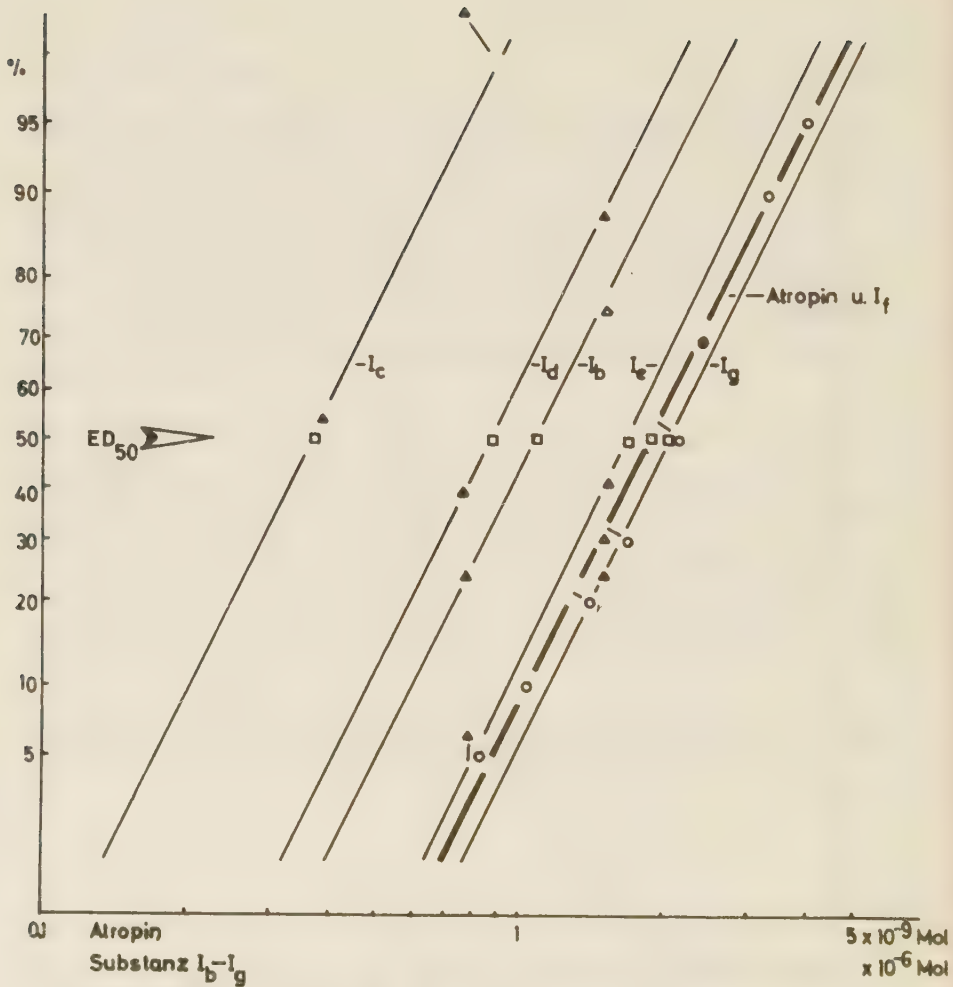


Abb. 21: Quantitative Beziehung zwischen der molaren Atropin-Dosis bzw. der molaren Dosis der Substanzen I_b-I_g pro 25 g Maus und der mydriatischen Wirkung nach i.p. Injektion; für Atropin transformiert aus Abb. 20.

Abszisse: Logarithmus der molaren Dosis von Atropin bzw. der Substanzen I_b-I_g pro 25 g Maus.

Ordinate: Pupillenerweiternde Wirkung von Atropin bzw. der Substanzen I_b-I_g in % relativ zum Ausgangswert. Hazen-Skala im Wahrscheinlichkeitsnetz.

Tab. 7: Pupillenerweiternde Wirkung der Substanzen $I_b - I_g$

Subst.	$\mu\text{g} / 25 \text{ g}$ Maus	Mol. / 25 g Maus	Pupillen- erweiterg. in % vom Normalwert	Pupillenerw. Wirkung in rel. Werten bezogen auf Atropin = 100 %	Umfang d. Stich- proben n	Irrtumswahrsch. (t-Test) p	ED_{50} Mol. / 25 g Maus	"Affinität" $= \frac{1}{ED_{50}}$	"Affinität" in relativen Werten bezogen auf Atropin = 100 %
Atropin	3	$4,32 \times 10^{-9}$	$170 \pm 25,6$	100	9	0,005	$1,85 \times 10^{-9}$	$5,41 \times 10^8$	100
I_b	312	$7,6 \times 10^{-7}$	$40 \pm 13,4$	24	9	0,005	$10,8 \times 10^{-7}$	$0,92 \times 10^6$	0,17
I_b	624	$15,2 \times 10^{-7}$	$129 \pm 37,5$	76	9	0,001			
I_c	161	$3,8 \times 10^{-7}$	$94 \pm 19,1$	55	9	0,001	$3,7 \times 10^{-7}$	$2,7 \times 10^6$	0,50
I_c	322	$7,6 \times 10^{-7}$	$170 \pm 11,8$	100	9	0,001			
I_d	332	$7,6 \times 10^{-7}$	$67 \pm 20,4$	39	9	0,001	$8,7 \times 10^{-7}$	$1,15 \times 10^6$	0,21
I_d	664	$15,2 \times 10^{-7}$	$151 \pm 16,3$	89	9	0,001			
I_e	345	$7,6 \times 10^{-7}$	$12 \pm 10,0$	7	9	0,1	$17,0 \times 10^{-7}$	$0,59 \times 10^6$	0,11
I_e	690	$15,2 \times 10^{-7}$	$71 \pm 21,5$	42	9	0,005			
I_f	710	$15,2 \times 10^{-7}$	$51 \pm 23,7$	30	9	0,005	$18,5 \times 10^{-7}$	$0,54 \times 10^6$	0,10
I_g	730	$15,2 \times 10^{-7}$	$41 \pm 20,4$	24	9	0,001	$21,0 \times 10^{-7}$	$0,48 \times 10^6$	0,09

3. Weitere pharmakologische Prüfungen

Die Substanzen I_c und I_1 wurden ferner auf ihre Wirksamkeit am isolierten Meer-schweinchen-Herzen nach Langendorff, auf ihre Blutdruckwirkung an der Katze, auf analgetische und auf Oxotremorin-antagonistische Wirkung an der Maus ge-prüft. In Übereinstimmung mit der bei der Prüfung auf Mydriasis beobachteten Trennung der spasmolytischen Hauptwirkung von der sogenannten Nebenwirkung, konnten wir bei den Verbindungen I_c und I_1 bis zu einer Dosierung von $15,2 \times 10^{-6}$ M/l keine nennenswerte Beeinflussung von Blutdruck und Herzfrequenz fest-stellen. Auch am isolierten Meerschweinchen-Herzen nach Langendorff wurde kei-ne Frequenzänderung und auch kein Einfluß auf die Kontraktionsamplitude und auf den Coronardurchfluß nachgewiesen.

Die Untersuchung der zentralen Wirkungen wurde vorgenommen, da wir im Rah-men der chemischen Untersuchungen eine ausgeprägte Lipidlöslichkeit der quar-tären Verbindungen feststellten. Die Verbindungen I_{h-1} werden beim Verteilen zwischen $CHCl_3$ und Wasser praktisch ausschließlich in der organischen Phase ge-funden. Es schien daher möglich, daß diese Verbindungen trotz ihrer quartären Struktur die Bluthirnschranke penetrieren und zentrale Effekte entfalten.

Von besonderem Interesse war in diesem Zusammenhang die Prüfung auf Anti-parkinson-Wirkung; Parasympaticolytica wie das Akineton[®] finden bei der Be-handlung des Parkinsonismus Anwendung.

Das Parkinson-Syndrom wird auf ein Ungleichgewicht zwischen monoaminergen und cholinergen Funktionen im ZNS zurückgeführt. Im Gehirn Parkinsonkranker ist die Monoaminkonzentration, vor allem die von Dopamin im Neostriatum, er-heblich vermindert und somit die Aktivität von Systemen, in denen ACH als Über-trägerstoff wirkt, gesteigert (12). Daraus ergibt sich eine therapeutische Verwen-dung von zentralen Cholinolytica einerseits und von L-Dopa andererseits.

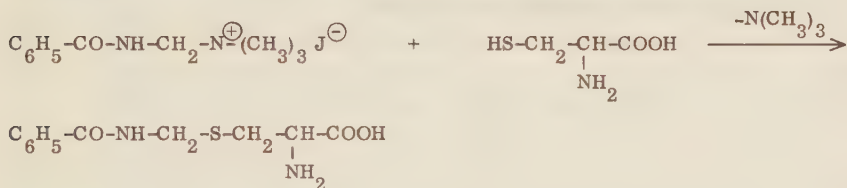
Die Prüfung der Oxotremorin-antagonistischen Wirkung an der Maus in einer Do-sierung von $7,6 \times 10^{-7}$ bzw. $15,2 \times 10^{-7}$ Mol/kg ergab jedoch keine Hemmung der Erregung, z. B. des Tremors, Rigors, der Salivation und des Trä-nenflusses.

In den gleichen Dosierungen war bei der Maus auch keine analgetische Wirkung nach der hot-plate-Methode nachweisbar.

4. Prüfung auf antimikrobielle und tumorhemmende Wirkung

Die Prüfung auf tumorhemmende und antimikrobielle Wirkung wurde bei einer Auswahl von N-Diphenylacetamidomethyl-trialkylammoniumjodiden aus folgenden Gründen vorgenommen:

Nach Untersuchungen von Hellmann u. Opitz (13) sind quartäre acylierte Aminale besonders gut zur Amidomethylierung nukleophiler Substrate geeignet. Bindl (3) konnte zeigen, daß quartäre acylierte Aminale im Gegensatz zu den tertiären Verbindungen auch unter physiologischen Bedingungen zu derartigen Umsetzungen befähigt sind:



Es gelang ihm, N-Benzamidomethyl-trimethylammoniumjodid mit Cystein bei pH 7, 35 und 37°C in S-Benzamidomethyl-cystein überzuführen. Die Testung von fünf N-Acylamidomethyl-trimethylammoniumjodiden auf antimikrobielle und tumorhemmende Eigenschaften durch Bindl (3) brachte jedoch negative Ergebnisse. Sie wurden auf eine zu gute Wasserlöslichkeit dieser Verbindungen zurückgeführt. Es lag daher nahe, diese Untersuchungen auf die in dieser Arbeit beschriebenen quartären Aminale I_{a-1}, die sich durch ausgeprägte lipophile Eigenschaften auszeichnen, auszudehnen. Eine bakteriologische Testung dieser Substanzen war darüber hinaus auch deshalb von Interesse, da sich quartäre Ammoniumverbindungen (Quats) als äußerlich anzuwendende Präparate bei der Bekämpfung infektiöser Hauterkrankungen bewährt haben (14).

I_{b-1} stehen in einer strukturellen Beziehung zu Dimethylbenzylalkylammoniumsalzen (Zephirol). Sie unterscheiden sich von diesen durch den Ersatz der Benzylgruppe durch den Diphenylacetamidomethylrest. Da aus der Klasse der Dimethylalkylbenzylammoniumsalze ein Anstieg der antimikrobiellen Wirkung mit steigen-

der Kettenlänge bekannt ist, war bei den vorliegenden Substanzen auf Grund ihrer Lipoidlöslichkeit mit guten antimikrobiellen Eigenschaften zu rechnen. Die Prüfung von I_{C-1} ergab eine Zunahme der bakterien- und pilzhemmenden Wirkung mit steigender Kettenlänge. Die besten Hemmwerte lagen gegen Bakterien bei 250 und gegen Pilze bei 125 $\mu\text{g/ml}$. Verglichen mit den für die Dimethylbenzylalkylammoniumsalze beschriebenen Hemmwerten waren die von I_1 jedoch erheblich geringer.

Die Prüfung auf tumorhemmende Wirkung wurde am Yoshida-Sarkom der Ratte vorgenommen. An diesem Tumormodell läßt sich mit Cealysin[®], dem Prototyp der aminomethylierenden Verbindungen eine 100 %ige Heilung erzielen (2). Da die gut lipoidlöslichen Verbindungen, I_1 und I_k keine Wirkung zeigten, wurde auf die Untersuchung weiterer Verbindungen verzichtet.

Tab. 8: Antimikrobielle Wirkung der N-Diphenylacetamidomethyl-trialkylammoniumjodide

Teststamm	Grenzkonzentration in µg/ml				
	$(C_6H_5)_2CH-CO-NH-CH_2-\overset{\overset{CH_3}{ }}{\underset{\underset{CH_3}{ }}{N^+R}}J^-$				
	$R = C_2H_5$ I_c	$R = C_4H_9$ I_e	$R = C_6H_{13}$ I_g	$R = C_8H_{17}$ I_i	$R = C_{10}H_{21}$ I_l
Microsporium audouini (HK/1328)	>1000	>1000	500	500	125
Microsporium distortum George (HK)			1000	500	250
Microsporium gypseum (PI)			1000	500	250
Microsporium gypseum (HK/CBS Bodin)			500	500	125
Trichophyton rubrum (HK/1604)		>1000	500	500	125
Trichophyton mentagrophytes (PI)			1000	500	250
Epidermophyton floccosum (PI/5601)			>1000	500	250
Sporotrichum schenckii (PI)			1000	500	250
Nocardia asteroides (E)		1000	500	500	250
Streptomyces (E)		1000	500	125	125
Enterococcus (E/6666-65)		>1000	1000	500	250
Bacillus subtilis (E)			500	250	250
Proteus providenciae (E)			>1000	1000	1000
Pseudomonas aeruginosa (E/7250-65)		>1000	>1000	1000	1000
Salmonella typhimurium (E)			>1000	1000	1000
Klebsiella pneumoniae (E/14310-66)			>1000	>1000	1000
Shigella flexneri (E/733-55 D/O Bus.)			>1000	1000	500
Candida albicans (E/8379-64)		1000	1000	500	250

5. Diskussion

Bei den spasmolytisch wirkenden quartären acylierten Aminen kommt es mit zunehmender Kettenlänge des N-Alkylrestes zu einem Übergang vom rein kompetitiven (I_{b-e}) zum nichtkompetitiven (I_{f-l}) Hemmtyp. In der homologen Reihe wird ein Maximum der spasmolytischen Wirkung bei der Verbindung I_c und ein weiteres Wirkungsoptimum bei I_l beobachtet. Ihr Zustandekommen erklärt sich wie folgt: Der Ersatz einer Methylgruppe bei I_b durch Äthyl (I_c) führt zu einer Verstärkung der Wirkstoff-Rezeptor-Wechselbeziehung durch Zunahme der hydrophoben Bindungskräfte, die pro CH_2 -Gruppierung mit 650 cal/Mol zu veranschlagen sind (16). Der Abfall der Wirkung bei weiterer Kettenverlängerung in den Verbindungen I_{d+e} (Abb. 22) erklärt sich mit einer zunehmenden sterischen Behinderung der Ionenbeziehung durch die größeren Alkylreste. Trotz des Ansteigens der hydrophoben Bindungskräfte ist das Ausmaß der Arzneistoff-Rezeptor-Wechselbeziehung durch die Abschwächung der Ionenbindung im ganzen schwächer, so daß es zu einer Abnahme der spasmolytischen Wirkung kommt. Diese Überlegungen werden durch den gleichartigen Kurvenverlauf für die spasmolytische und die mydriatische Wirkung der Homologen gestützt (Abb. 22). Ausgeprägte mydriatische Eigenschaften scheinen nur bei rein kompetitiv wirkenden Spasmolytica wie Substanz I_c aufzutreten. Der Übergang zum nichtkompetitiven Hemmstofftyp I_{d-h} führt zu einer Abschwächung und schließlich zum Verlust der mydriatischen Nebenwirkung.

Aus diesen Betrachtungen ergibt sich auch, daß die Ionenbeziehung für die mydriatische Nebenwirkung, nicht jedoch für die spasmolytische Wirkung eine wesentliche Voraussetzung ist. Umgekehrt findet die Bedeutung der hydrophoben Bindungskräfte für das Zustandekommen der spasmolytischen Eigenschaften bei den höheren Homologen (I_{h-l}) ihren Ausdruck im Fehlen mydriatischer Eigenschaften. Die stärkste spasmolytische Wirkung zeigte die Verbindung I_l (Abb. 22). Sie besitzt am Ratten-Jejunum 40 % der Atropinwirkung; verglichen mit Papaverin ist I_l in diesem Versuch 20 mal so wirksam. Beachtlich ist die in der gleichen Größenordnung liegende Wirkung von I_l am Histamin- und am $BaCl_2$ -Spasmus.

Da bei der Suche nach neuen Spasmolytica nicht so sehr die Wirkungsstärke sondern das Fehlen von Nebenwirkungen bei ausreichend spasmolytischen Eigenschaften

ten entscheidend ist, scheint die Verbindung I₁ für eine eingehendere pharmakologische und klinische Prüfung in Betracht zu kommen (vergleiche dazu 16). Die bei Spasmolytica häufig beobachtete Ausbildung eines Wirkungsmaximums innerhalb einer homologen Reihe mit einem anschließenden Wirkungsabfall konnte hier nicht festgestellt werden. Die Prüfung von Verbindungen mit einer über C₁₀ hinausgehenden Alkylkette wurde wegen der zu geringen Wasserlöslichkeit nicht vorgenommen.

Für die fehlenden tumorhemmenden Eigenschaften machen wir die auf einer sterischen Abschirmung beruhende Stabilität der Verbindungen in wäßrigen Lösungen verantwortlich.

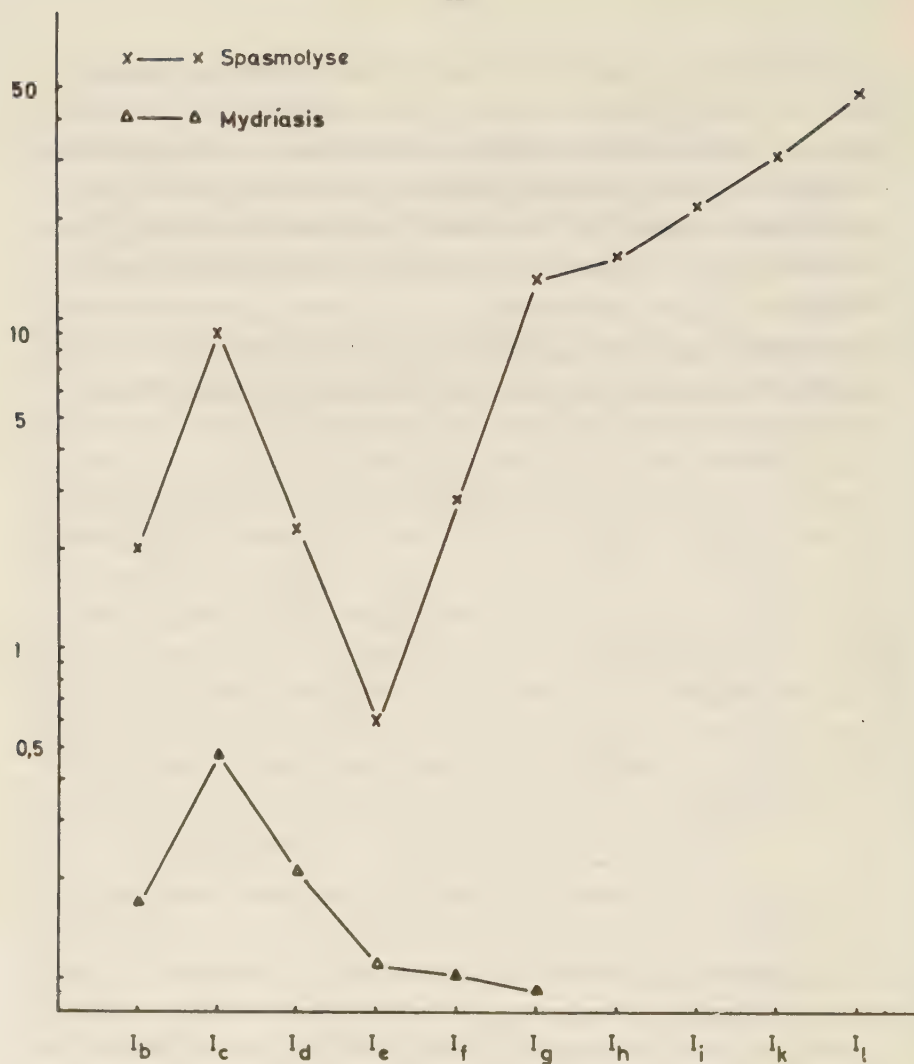


Abb. 22: Spasmolytische und mydriatische Wirkung der Substanzen I_{b-l} bezogen auf Atropin = 100.

Abszisse: Auf der Abszisse sind die Substanzen I_{b-l} mit steigender Kettenlänge am quartären Stickstoff aufgetragen (C₁-C₁₀).

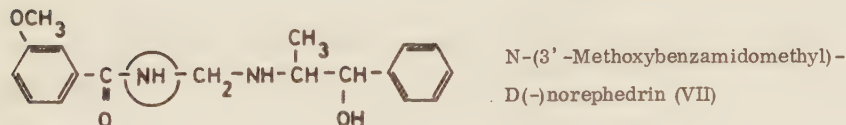
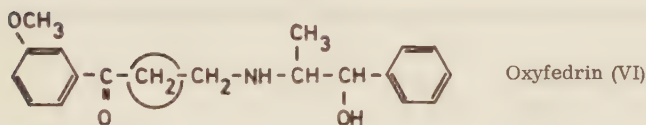
Ordinate: Logarithmischer Maßstab der spasmolytischen bzw. pupillenerweiternden Wirkung ausgedrückt als Affinität

$$\frac{1}{K_J} \text{ bzw. } \frac{1}{ED_{50}}$$

C. SYNTHESE VON N-BENZAMIDOMETHYL- UND N-DIPHENYLACETAMIDOMETHYL-PHENYLALKYL- AMINEN UND IHRE PRÜFUNG AUF HERZ- UND KREISLAUFWIRKUNG

I. EINFÜHRUNG UND PROBLEMSTELLUNG

N-Benzamidomethyl- und N-Diphenylacetamidomethyl-phenylalkylamine sind noch nicht beschrieben. Sie stehen in einer engen strukturellen Beziehung zu Oxyfedrin. Die Verbindung Nr. VII unterscheidet sich von Oxyfedrin (VI) durch den Austausch der α -ständigen CH_2 -Gruppe durch NH.



Wir nehmen an, daß die neuen Verbindungen wie im Falle der zu Falicain[®] (3), Contranal[®] oder Arpenal[®] isosteren Verbindungen in ihren biologischen Eigenschaften der entsprechenden Modellverbindung gleichen.

Über Oxyfedrin, das in der Therapie bei Coronarinsuffizienz, Angina pectoris und Myocardinfarkt Verwendung findet, liegen eine Vielzahl pharmakologischer Beobachtungen vor (17-25).

Oxyfedrin erhöht am isolierten Meerschweinchenherzen den Coronardurchfluß. Es wirkt positiv inotrop und chronotrop (17, 25). Durch β -Blocker wie Propranolol wird die Steigerung der Kontraktilität und der Frequenz aufgehoben. Die Coronardurchfluß-erhöhende Wirkung bleibt abgeschwächt erhalten. Verglichen mit Isoprenalin ist Oxyfedrin ein schwaches direkt wirkendes β -Adrenergicum mit einem

weiteren Angriffspunkt, wahrscheinlich im Bereich der metabolischen Autoregulation des Coronargeßwiderstandes (25).

Im Rahmen unserer eigenen Untersuchungen wurde die Entwicklung von 3 Wirkstofftypen in der Klasse der N-Benzamidomethyl-phenylalkylamine angestrebt;

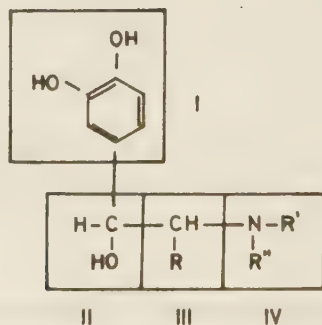
Typ A. Verbindungen mit vorwiegend β -mimetischer Wirkung

Typ B. Verbindungen mit vorwiegend coronardilatierender Wirkung

Typ C. Peroral applizierbare Adrenomimetica mit langanhaltender blutdrucksteigernder Wirkung (Chemische Retardpräparate).

II. VERBINDUNGEN VOM TYP A

Bei der Synthese von Verbindungen des Typs A sind folgende strukturelle Erfordernisse für das Auftreten einer β -mimetischen Wirkung zu berücksichtigen (28, 29, 30):



Strukturelement I: Voraussetzung für eine optimale β -mimetische Wirkung ist die Brenzkatechin-Struktur. Der Austausch der p-ständigen OH-Gruppe durch H führt zu einer Wirkungsabnahme. Unsubstituierte Verbindungen und Verbindungen mit Cl-, $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ - oder CH_3 -Gruppen in 3,4-Stellung sind β -Sympatholytica.

Strukturelement II: Der Verlust der alkoholischen OH-Gruppe führt zu einer starken Abnahme der β -mimetischen und zum Auftreten einer β -lytischen

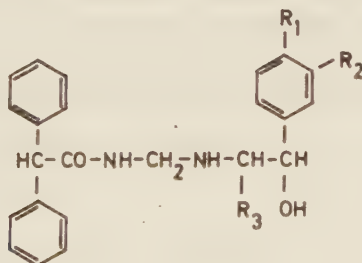
Wirkung. Gleichartiges bewirkt der Wechsel von der optimalen D- zur L-Konfiguration. Racemate verhalten sich in der Regel wie partielle Agonisten.

Strukturelement III: Eine CH_3 -Gruppe am α -C-Atom reduziert die β -mimetische Wirkung.

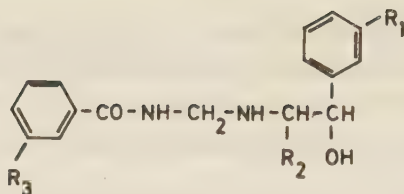
Strukturelement IV: Für die β -mimetische Wirkung ist die sekundäre Aminogruppe wesentlich. Besonders wirksam sind Verbindungen, die als R' einen verzweigten Alkyl- (z. B. Isopropyl) oder Aralkylrest (z. B. Phenylisobutyl oder besonders p-Hydroxyphenylisobutyl) aufweisen. Tertiäre Basen zeigen eine reduzierte Wirkung; die quartären Verbindungen sind inaktiv. Der Übergang von der α - zur β -mimetischen Wirkung bei der Substitution mit verzweigten Alkyl- und Aralkylresten am Stickstoff des Noradrenalins wird mit einer Behinderung der Ionenbeziehung zum adrenergen Rezeptor erklärt. Es wird eine hydrophobe Wechselwirkung dieser Gruppe mit angrenzenden Rezeptorbereichen diskutiert.

1. Synthese

In dieser Arbeit wird die Synthese folgender N-Acylamidomethyl-alkanolamine beschrieben:

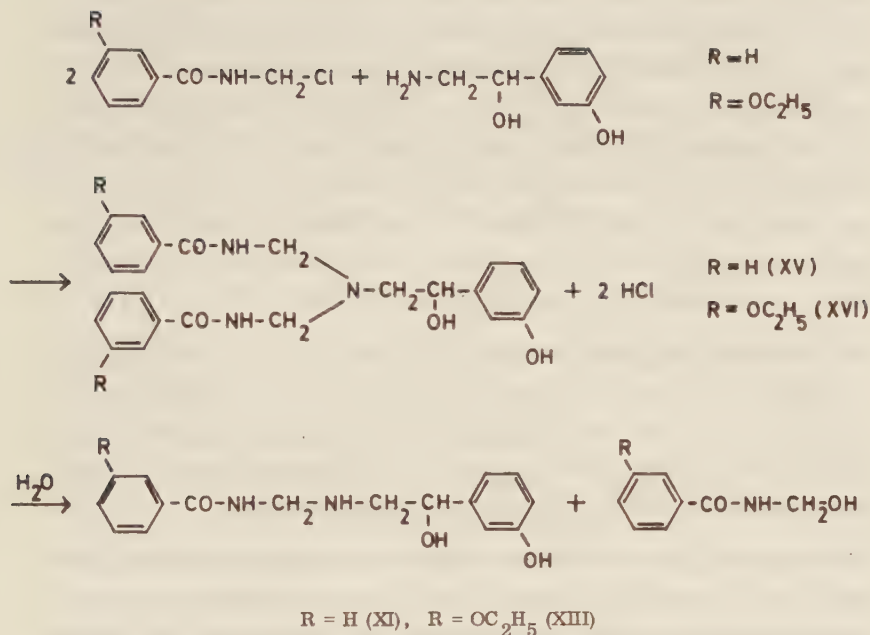


VIII	$\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{OH},$	$\text{R}_3 = \text{H}$	Konf. D, L
IX	$\text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{OH},$	$\text{R}_3 = \text{H}$	Konf. D, L
X	$\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{H},$	$\text{R}_3 = \text{CH}_3$	Konf. D (-)



XI	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{H}$	Konf. D, L
XII	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{OCH}_3$	Konf. D, L
XIII	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{OC}_2\text{H}_5$	Konf. D, L
XIV	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}$	Konf. D (-)
VII	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{OCH}_3$	Konf. D (-)

Zur Synthese bieten sich 2 Wege an: einmal die direkte N-Mannichkondensation des Säureamids mit Paraformaldehyd und Amin, wie sie bei der Herstellung der spasmolytisch wirkenden quartären Verbindungen angewandt wurde (siehe F I 1); zum zweiten die Kondensation von Chlormethylcarbonsäureamiden mit Amin unter Triäthylaminzusatz als H^+ -Akzeptor. Da bei der ersten Methode, wie wir in Vorversuchen feststellen konnten, die Möglichkeit der Ringsubstitution und der Polykondensation bei der Verwendung phenolischer Amine bestand und in vielen Fällen die Umsetzungen außerdem unvollständig verliefen, wurde von uns ausschließlich das zweite Verfahren benutzt. Es wurde beobachtet, daß beim Einsatz primärer Amine beide Wasserstoffe durch Benzamidomethylreste ersetzt wurden. Die 2. Bindung ist jedoch so labil, daß sie bei der üblichen Aufarbeitung durch Hydrolyse gespalten wird. In kristalliner Form wurden doppelt substituierte Produkte nur in 2 Fällen isoliert.



Allgemeines Reaktionsschema am Beispiel der Verb. XI und XIII

Zur Herstellung wurden die Säureamide in Dioxan gelöst, mit einem Überschuß an wäßrigem Formalin (35 %) und K_2CO_3 versetzt und 30 Minuten bei 80° gerührt. Nach der Filtration wurde Wasser zugesetzt und die beim Erkalten ausfallenden kristallinen N-Hydroxymethylcarbonsäureamide aus verdünntem Äthanol umkristallisiert. Mit Hilfe dünnschichtchromatographischer Untersuchungen wurde die Umsetzung auf Vollständigkeit und die erhaltenen Kristalle auf Reinheit untersucht.

Andere, in der Literatur beschriebene Synthesemethoden, bei denen Mischungen von Wasser und anderen organischen Lösungsmitteln benutzt wurden, führten, besonders bei höher substituierten Benzamidderivaten, zu schlechteren Ausbeuten.

Zur Synthese der Chlormethylderivate wurden die N-Hydroxymethylcarbonsäureamide in absolutem Äther suspendiert und unter Eiskühlung langsam unter Schütteln mit PCl_5 versetzt. Die nach dem Anreiben zumeist spontan kristallin anfallenden Produkte wurden sofort zur Synthese der Endprodukte eingesetzt. Für die Her-

stellung der Benzamidomethyl-phenylalkanolamine wurde im allgemeinen Methylenchlorid als Lösungsmittel verwendet. Dazu wurde das Amin und das Triäthylamin in CH_2Cl_2 gelöst und bei 0° unter Umschütteln mit der Suspension des Chlormethylcarbonsäureamids in CH_2Cl_2 versetzt. Der Reaktionsansatz wurde mehrmals mit verdünnter HCl ausgeschüttelt, um nicht umgesetztes Amin und das Triäthylamin zu entfernen. Da die gewünschten Verbindungen in Cl^- -haltigem Wasser kaum löslich sind, wurde anschließend mit reinem Wasser erschöpfend extrahiert. Nach vorsichtigem HCl-Zusatz konnten einige der stabileren sekundären Amine direkt aus der wäßrigen Phase kristallin gewonnen werden.

Die hydrolyseempfindlicheren tertiären Amine (siehe C, IV) wurden nach dem Ausschütteln mit Wasser sofort durch NH_3 -Zusatz in die Basen überführt und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Nach dem Trocknen und Abziehen des Lösungsmittels wurde der Rückstand in Methanol/Äther aufgenommen und daraus auf die übliche Weise durch Äther/HCl-Zusatz das Hydrochlorid kristallin gewonnen.

Schwierigkeiten ergaben sich bei der Synthese mit den phenolischen Aminen Norfenefrin und Noradrenalin. Beim Umsatz von Norfenefrin entstanden größere Mengen wahrscheinlich höhermolekularer Nebenprodukte, weswegen die Ausbeuten zwischen 10 - 20 % lagen. Noradrenalin ist in den meisten Lösungsmitteln unlöslich. Es löst sich lediglich in heißem DMSO oder DMF. Da jedoch die Umsetzung in diesen Lösungsmitteln zu keinen nennenswerten Mengen des gewünschten Produktes führte, wurde Noradrenalin in Methanol suspendiert und unter schnellem Rühren mit der Lösung des Chlormethylcarbonsäureamids in CH_2Cl_2 versetzt. Die Reindarstellung erfolgte nach Abfiltrieren des nicht umgesetzten Noradrenalins, Abdampfen des Lösungsmittels, Überführen mit Äther/HCl in das Hydrochlorid und Umkristallisation in Alkohol/Äther. Die Ausbeuten lagen allerdings nur bei 5 %; sie konnten durch Variation der Reaktions- und Aufarbeitungsbedingungen nicht gesteigert werden.

Bei der beschriebenen Methode ist beim Einsatz von Phenolalkanolaminen neben der Reaktion am Stickstoff mit einer Substitution in Nachbarstellung zur phenolischen OH-Gruppe und eventuell einer Reaktion an der alkoholischen OH-Gruppe zu rechnen. Aufgrund der unterschiedlichen pK_a -Werte, die analog den Reaktionsprodukten von Ephedrin bzw. Norephedrin in der Regel um 3, 5 Einheiten niedriger

liegen, ist eine Reaktion am Stickstoff als sicher anzunehmen. Alle Verbindungen geben die typische Anfärbung sekundärer Amine beim Besprühen mit Ninhydrin. Durch den Nachweis der entsprechenden Phenolalkanolamine nach der hydrolytischen Spaltung, konnte ebenfalls eine Ringsubstitution ausgeschlossen werden. Eine Klärung der Frage - Ringsubstitution oder Substitution am Stickstoff - durch NMR-Spektroskopie ist nicht möglich. Sowohl die Methylengruppe der Benzylamine als auch die der Aminale absorbieren zwischen 5 und 6 τ .

Tab. 9: pK_a -Werte von N-Benzamidomethyl-phenylalkylaminen

Nr.	Substanz	
XXIX _a	N-Benzamidomethyl-D(-)-ephedrin	6,52
XXIX _b	N-Benzamidomethyl-L(+)-ephedrin	6,52
XXX	o-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-ephedrin	6,65
XIX	p-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin	6,18
XX	m-Äthoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin	6,08
XXVII	m-Methoxybenzamidomethyl-D(+)-amphetamin	6,79
XIV	Benzamidomethyl-D(-)-norephedrin	6,15
XXVIII	m-Methoxybenzamidomethyl-phenyläthylamin	6,17
XXVI	m-Methoxybenzamidomethyl-D, L-phenyläthanolamin	6,15
VII	m-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin	6,40
XVIII	o-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin	6,65
XL	N-Benzamidomethyl-D, L-norfefefrin	5,20
XIII	m-Äthoxybenzamidomethyl-D, L-norfefefrin	5,18
VI	Oxyfedrin	8,00
	D(-)-Norephedrin	9,44 ⁺
	D(-)-Ephedrin	9,67 ⁺
	D(+)-Amphetamin	10,38 ⁺
	Phenyläthylamin	9,84 ⁺
	D, L-Phenyläthanolamin	
	D, L-Norfefefrin	8,67 ⁺

2. Pharmakologische Prüfung

Die Verbindungen Nr. VII - XIV wurden am isolierten Meerschweinchenherzen nach Langendorff geprüft. VII und XIV zeigten eine schwache positiv inotrope und durchflußsteigernde Wirkung; keine der Substanzen erreichte jedoch die Wirkung des Oxyfedrins, das als Vergleichssubstanz in die Testung einbezogen wurde. Das Ziel, durch Einführung der für die β -mimetische Wirkung als günstig erkannten Gruppen I - IV zu optimal wirkenden β -Mimetica zu gelangen, wurde nicht erreicht. Wir erklären uns diesen Befund mit der bedeutend geringeren Basizität der N-Benzamidomethyl- und N-Diphenylacetamidomethyl-phenylalkanolamine - sie liegen unter physiologischen Bedingungen nur zu einem geringen Teil protonisiert vor - und mit sterischen Faktoren, die zu einer Behinderung der Wechselbeziehung mit den Rezeptoren führen. Die Ergebnisse sind aus der zusammenfassenden Tabelle Nr. 11 zu entnehmen.

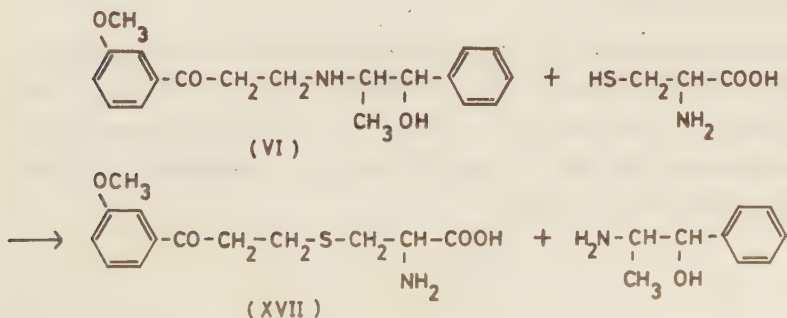
3. Betrachtungen zum Mechanismus der positiv inotropen Wirkung des Oxyfedrins

Für die positiv inotrope Wirkung des Oxyfedrins ist ein auf der chemischen Reaktion mit nukleophilen Gruppen der Herzrezeptoren beruhender Mechanismus denkbar.

Einen Hinweis hierfür geben die Untersuchungen zum Mechanismus der antimikrobiellen Wirkung der β -Aminoketone, über die in der Dissertation Bastug (1) ausführlich berichtet wird. Danach zerfallen β -Aminoketone bei physiologischen Bedingungen unter Amineliminierung in α , β -ungesättigte Ketone, die zu Reaktion mit nukleophilen Substraten befähigt sind. Daneben konnte Bastug (1) auch eine direkte Umsetzung der β -Aminoketone mit SH-Verbindungen feststellen, ein Vorgang, der als Acyläthylierung bezeichnet wird.

Ein analoger Mechanismus für die positiv inotrope Wirkung von Oxyfedrin am Herzen wird auch durch die Beobachtung von D.R. Bennet u. M.B. Chenoweth (32) gestützt, wonach α , β -ungesättigte Ketone wie Acrolein und Methylvinylketon am hypodynamischen Herzen eine Erhöhung der Amplitude hervorrufen. Zu ähnlichen Befunden kam Thiele et al. (22) mit dem Spaltprodukt des Oxyfedrins, dem 3-Methoxyphenylvinylketon; bei i. v. Applikation am Ganztier konnte er dagegen keine Wirkung beobachten, was mit der hohen Reaktivität dieser Verbindung erklärbar ist.

Zur Klärung dieser Frage wurde Oxyfedrin auf seine Fähigkeit zur Acyläthylierung nukleophiler Substrate unter physiologischen Bedingungen am Beispiel der Umsetzung mit Cystein geprüft.



Es wurde festgestellt, daß sich innerhalb kurzer Zeit entsprechend der oben stehenden Gleichung S-3-(3'-Methoxyphenyl)-3-oxopropyl-cystein (XVII) bildet. Das Produkt wurde isoliert und durch Elementaranalyse identifiziert. Der Nachweis auf eine freie SH-Gruppe mit ammoniakalischer Nitroprussid-Lösung verlief negativ. Bei Zugabe von NaOH erfolgte nach Spaltung des Moleküls die positive Reaktion. Die Verbindung Nr. XVII zeigte am Langendorff-Herzen selbst keine Wirkung.

Zur Klärung der Frage ob am isoliert schlagenden Herzen eine Reaktion mit SH-Gruppen des Rezeptors für die positiv inotrope Wirkung des Oxyfedrins wesentlich ist, prüften wir den Einfluß der SH-Blocker Cadmium-acetat und N-Äthylmaleinimid, die nach Morgan u. Friedmann (33) SH-Gruppen für längere Zeit zu blockieren vermögen. Beide Verbindungen zeigten selbst keine positiv inotrope Wirkung. Bei Cadmium-acetat kam es zu einer kurzfristigen Erniedrigung der Amplitude.

In weiteren Versuchen wurde die Beeinflussung der Oxyfedrinwirkung durch diese Verbindungen geprüft.

Für die Untersuchungen wurde zuerst jeweils die Zunahme der Amplitude, des Durchflusses und der Frequenzsteigerung am unbehandelten Herzen durch eine einmalige Gabe von 5 µg Oxyfedrin festgestellt. Nach etwa 45 Minuten erzeugte eine erneute Dosis von 5 µg Oxyfedrin eine vergleichbare Steigerung der Herzleistung. Gibt man vor der Zugabe des Oxyfedrins oder gleichzeitig einen der beiden SH-Blocker (molares Verhältnis Oxyfedrin : Cadmium-acetat 1 : 3 und Oxyfedrin : N-Äthylmaleinimid 1 : 5), so müßte bei dem oben diskutierten Wirkmechanismus eine Verminderung der positiv inotropen Wirkung des Oxyfedrins eintreten. Es konnte jedoch weder bei vorheriger noch bei gleichzeitiger Zugabe eines SH-Blockers eine Abnahme der am unbehandelten Herzen festgestellten Leistungssteigerung beobachtet werden.

Abschließend prüften wir β-Pyrrolidino-propiofenon und β-Dimethylamino-propiofenon, zwei β-Aminoketone, die nach Untersuchungen von Bastug (1) zur Acyl-äthylierung befähigt sind und deshalb aufgrund des zur Diskussion gestellten Reaktionsmechanismus eine positiv inotrope Wirkung am Herz haben sollten. Die Substanzen waren jedoch wirkungslos.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen schließen einen Mechanismus für die positiv inotrope Wirkung des Oxyfedrins, der auf einer Acyläthylierung von Herzrezeptoren beruht, aus.

III. VERBINDUNGEN VOM TYP B

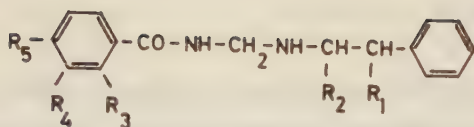
Der angestrebte Wirkstofftyp B entspricht den pharmakologischen Forderungen, die an benigne Coronardilatoren gestellt werden; unter der Einwirkung von Coronardilatoren soll es zu keiner Veränderung der Herzleistung und zu keinem Angriff an den peripheren Gefäßen kommen. Einige Autoren (21) sehen diese Definition als zu eng an. Sie bewerten eine gesteigerte Sauerstoffaufnahme nicht negativ, da sie die Ursache der Myocardinsuffizienz nicht in einer mangelhaften Energiebereitstellung sondern in einer Störung der Energieverwertung sehen.

Oxyfedrin zeigt, wie eingangs erwähnt wurde, neben einer Kontraktilitätssteigerung am Herzen noch einen coronarerweiternden Effekt. Die gleichen Eigenschaften wurden, wenn auch in stark abgeschwächter Form, von uns in Versuchen bei der N-isosteren Verbindung Nr. VII festgestellt.

Unser Ziel war es, die Kontraktionskraft-steigernde Wirkung dieser Verbindung von der coronardilatierenden durch strukturelle Abwandlung abzutrennen. β -mimetische Effekte lassen sich, wie Versuche am β -Symphatomimeticum Isoproterenol gezeigt haben, durch folgende Änderungen am Molekül abschwächen:

1. Ersatz der phenolischen OH-Gruppe durch H, OCH_3 , CH_3 oder Cl. Besonders durch Einbau von CH_3 und Cl wird eine starke Reduktion der β -mimetischen Wirkung beobachtet.
2. Überführen der sekundären Base in die tertiäre.
3. Änderung der Konfiguration am Carbinol-C-Atom (L-konfigurierte Verbindungen zeichnen sich durch β -lytische Wirkung aus).
4. Ersatz der Carbinolgruppe durch H.
5. Substitution von H durch Alkylreste (z. B. $\text{R}_2 = \text{CH}_3$) in Nachbarschaft zum Stickstoff.

Es wurden folgende Verbindungen mit möglicher β -lytischer und coronardilatierender Wirkung synthetisiert:



XVIII	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{OCH}_3, R_{4,5} = \text{H}$	Konf. D (-)
XIX	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{H}, R_5 = \text{OCH}_3$	Konf. D (-)
XX	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{OC}_2\text{H}_5, R_5 = \text{H}$	Konf. D (-)
XXI	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{OC}_3\text{H}_7, R_5 = \text{H}$	Konf. D (-)
XXII	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{H}, R_5 = \text{Cl}$	Konf. D (-)
XXIII	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{Cl}, R_5 = \text{H}$	Konf. D (-)
XXIV	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{CH}_3, R_5 = \text{H}$	Konf. D (-)
XXV	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{OCH}_3, R_5 = \text{OCH}_3$	Konf. D (-)
XXVI	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{OCH}_3, R_5 = \text{H}$	Konf. D, L
XXVII	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{OCH}_3, R_5 = \text{H}$	Konf. D (+)
XXVIII	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{OCH}_3, R_5 = \text{H}$	-

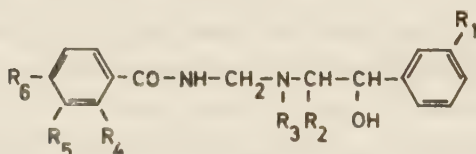
Die Herstellung der Verbindungen wurde nach dem unter C II beschriebenen Verfahren durchgeführt. Die pharmakologische Prüfung erfolgte am isolierten Meer-schweinchen-Herzen nach Langendorff. Das Ziel, die Trennung der coronardilatierenden von den positiv inotropen Eigenschaften und die Verstärkung der coronardi-latierenden Wirkung wurde in diesen Versuchen nicht erreicht.

Die Ergebnisse sind aus der zusammenfassenden Tabelle Nr. 11 zu entnehmen.

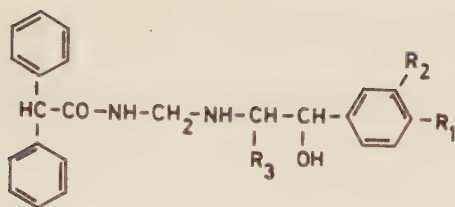
IV. VERBINDUNGEN VOM TYP C

Für die Entwicklung von Verbindungen des Wirkstofftyps C (Chemische Retardpräparate, latente Sympathomimetika) wurden Noradrenalin, Norfenefrin und Ephedrin mit größeren Acylamidomethylresten substituiert. Wir nahmen an, daß diese Verbindungen stark abgeschwächte adrenomimetische Eigenschaften aufweisen. Wegen ihres lipophilen Charakters werden diese Substanzen bei peroraler Applikation vermutlich gut resorbiert. Es wurde angenommen, daß sie auf Grund der relativen Instabilität im Blutkreislauf eine langsame hydrolytische Spaltung zu aktiven Phenolalkanolaminen erleiden.

Es wurden folgende N-Acylamidomethyl-phenylalkylamine nach der unter C II beschriebenen Methode synthetisiert.



XI	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{H}, R_{4,5,6} = \text{H}$	Konf. D, L
XIII	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{H}, R_5 = \text{OC}_2\text{H}_5, R_6 = \text{H}$	Konf. D, L
XXIX _{a-d}	$R_1 = \text{H}, R_{2,3} = \text{CH}_3, R_{4,5,6} = \text{H}$	Konf. D (-) L (+) D (-) Ψ D (+) Ψ
XXX	$R_1 = \text{H}, R_{2,3} = \text{CH}_3, R_4 = \text{OCH}_3, R_{5,6} = \text{H}$	Konf. D (-)
XXXI _{a+b}	$R_1 = \text{H}, R_{2,3} = \text{CH}_3, R_4 = \text{H}, R_5 = \text{OCH}_3, R_6 = \text{H}$	Konf. D (-) L (+)
XXXII	$R_1 = \text{H}, R_{2,3} = \text{CH}_3, R_{4,5} = \text{H}, R_6 = \text{OCH}_3$	Konf. D (-)
XXXIII	$R_1 = \text{H}, R_{2,3} = \text{CH}_3, R_4 = \text{H}, R_5 = \text{CH}_3, R_6 = \text{H}$	Konf. D (-)



VIII	$R_{1,2} = \text{OH},$	$R_3 = \text{H}$	Konf. D, L
IX	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH},$	$R_3 = \text{H}$	Konf. D, L
X	$R_{1,2} = \text{H},$	$R_3 = \text{CH}_3$	Konf. D (-)

Die Testung dieser Substanzen auf ihre Blutdruckwirkung erfolgte bei i. v. Applikation an der Katze in Dosierungen bis 2×10^{-5} Mol pro kg und bei peroraler Verabreichung an der Ratte bis 5×10^{-5} Mol pro kg. Die eingesetzten Substanzen zeigten jedoch keine signifikanten Blutdruckänderungen. Für das Ausbleiben der Wirkung nehmen wir eine zu langsame Spaltung der Substanzen an.

Zur Klärung dieser Frage wurden Hydrolyse-Versuche vorgenommen. Dabei wurde festgestellt, daß sich alle Verbindungen durch eine relativ große Stabilität auszeichnen. Die tertiären N-Verbindungen sind wesentlich stabiler als die sekundären. Eine beträchtliche Zunahme der Stabilität erzielte man beim Übergang von der Phenylisopropylamin-Struktur der Norephedrine zum Phenyläthanolamin. Die stabilsten Derivate waren solche ohne alkoholische OH-Gruppe wie die des Phenyläthylamins und Amphetamins.

Zur Bestimmung der Zerfallsgeschwindigkeit wurde eine wäßrige Lösung der Hydrochloride bei $20^\circ\text{C} \pm 1$ gelagert. Auf Grund der unterschiedlichen pK_a -Werte der Ausgangsbasis und des beim Zerfall entstehenden Amins lassen sich beide in alkoholischer Lösung durch potentiometrische Titration nebeneinander bestimmen. Es wurden 5 ml der wäßrigen Lösung je nach Zerfallsgeschwindigkeit im Abstand von 0,5, 1, 6, 12, 24 oder 48 Stunden entnommen, mit 45 ml Äthanol verdünnt und titriert. Aus den erhaltenen Kurven ließ sich das Verhältnis von unzersetzter zu zersetzter Substanz direkt ablesen. Die gefundenen Werte wurden in % gegenüber der Zeit in ein Koordinatensystem eingetragen.

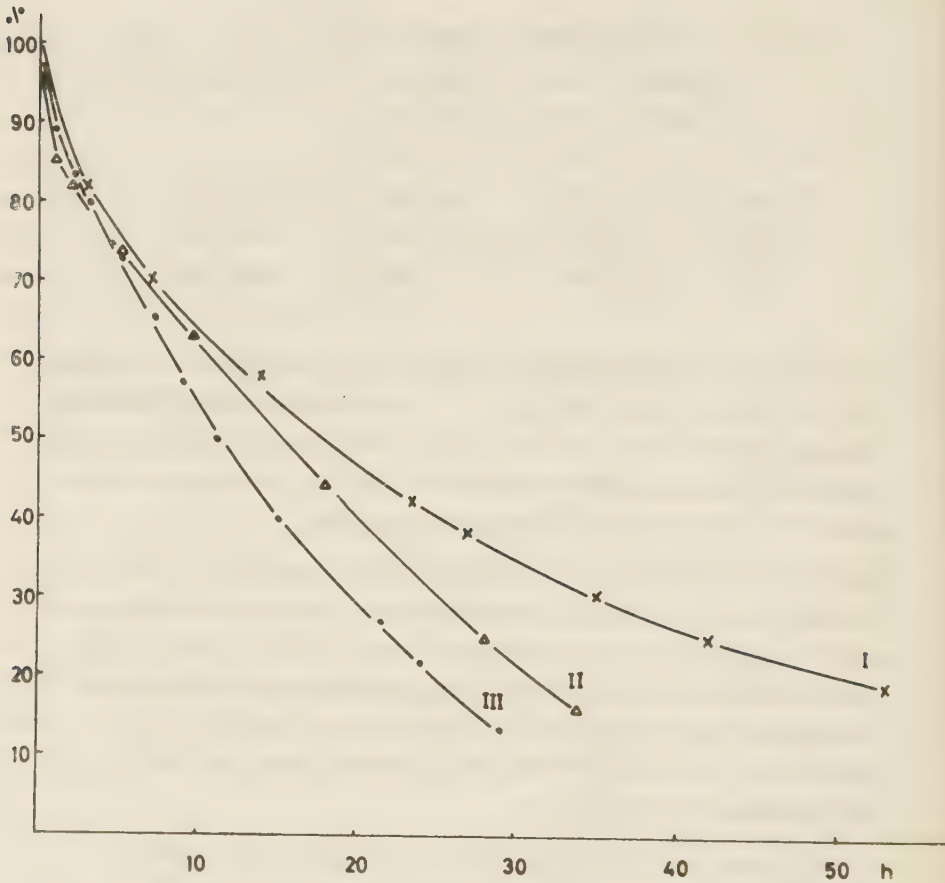


Abb. 23: Hydrolytischer Zerfall bei $20^{\circ}\text{C} \pm 1$.

I. N-Benzamidomethyl-D,L-norfenefrin · HCl

II. N-m-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-ephedrin · HCl

III. N-o-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-ephedrin · HCl

Abszisse: Lagerungszeit in Stunden

Ordinate: Menge der nichtzerfallenen Ausgangssubstanz in %

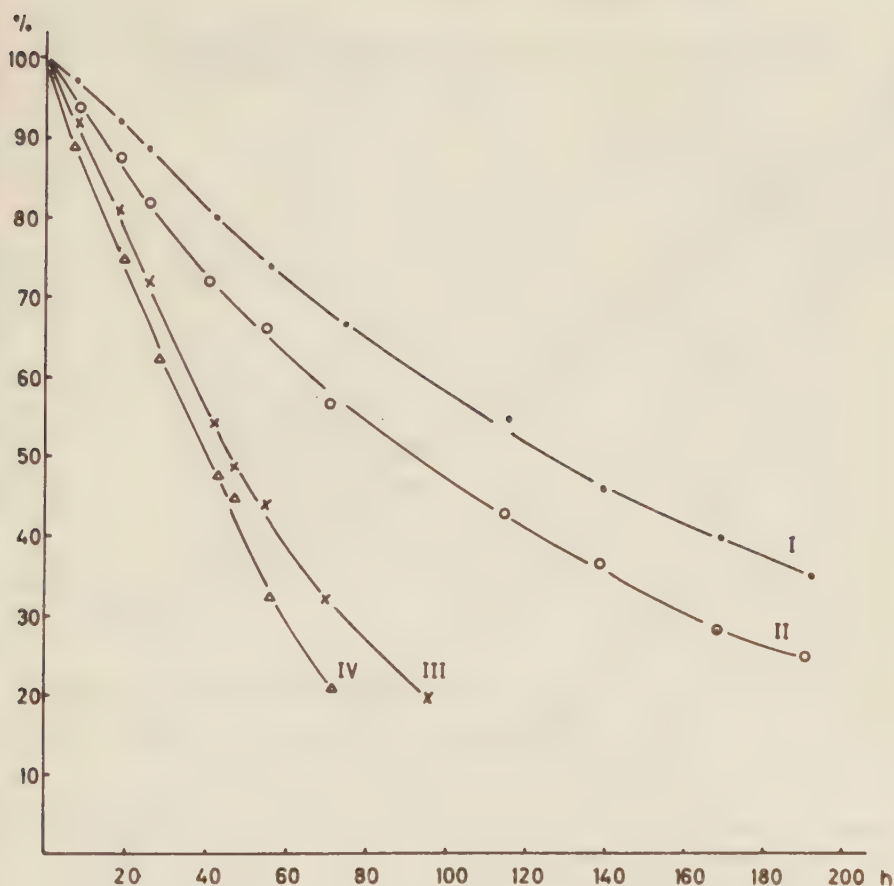


Abb. 24: Hydrolytischer Zerfall bei $20^{\circ}\text{C} \pm 1$.

- I. N-m-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl
- II. N-Benzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl
- III. N-o-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl
- IV. N-p-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl

Abszisse: Lagerungszeit in Stunden

Ordinate: Menge der nichtzerfallenen Ausgangssubstanz in %

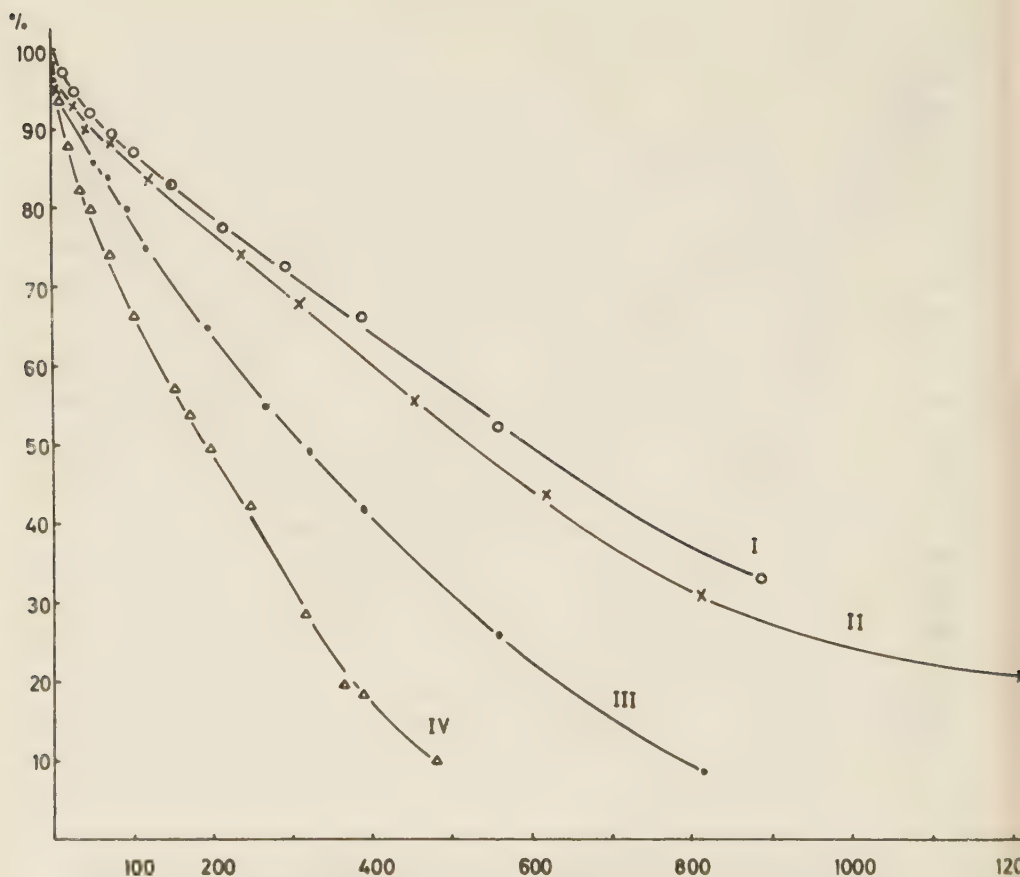


Abb. 25: Hydrolytischer Zerfall bei $20^{\circ}\text{C} \pm 1$.

- I. N-m-Methoxybenzamidomethyl-phenyläthylamin · HCl
- II. N-m-Methoxybenzamidomethyl-D(+)-amphetamin · HCl
- III. Diphenylacetamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl
- IV. N-m-Methoxybenzamidomethyl-D, L-phenyläthanolamin · HCl

Abszisse: Lagerungszeit in Stunden

Ordinate: Menge der nichtzerfallenen Ausgangssubstanz in %

Aus den Abb. 23 - 25 lassen sich folgende Halbwertszeiten entnehmen:

Tab. 10: Halbwertszeit für die Hydrolyse von N-Benzamidomethyl-phenylalkylamin-Derivaten

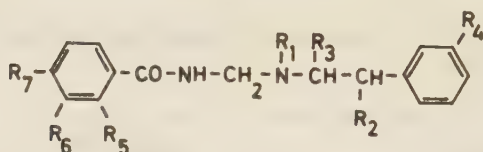
Aminanteil	Halbwertszeit in Stunden
Tert. Amine:	
Ephedrin-Derivate	10
Sek. Amine:	
Norfenefrin-Derivate	20
Norephedrin-Derivate	50
Phenyläthanolamin-Derivate	200
Phenyläthylamin-Derivate, Phenylisopropylamin- (Amphetamin) Derivate	550

Die gefundenen Werte bestätigen die Annahme, daß das Fehlen einer blutdrucksteigernden Wirkung mit der Stabilität in Beziehung steht.

Versuche, die Wirkung unterschwelliger Dosen von freigesetztem Symphatomimetikum durch vorherige Gabe von Cocain nachzuweisen, schlugen fehl.

Cocain ist in der Lage, die Rückresorption von Brenzkatechinaminen in das chromaffine Gewebe zu verhindern. Es macht die Membranen dieser Katecholaminspeicher undurchlässig, es verhindert die Rückresorption und steigert die Konzentration und die Verweilzeit am Rezeptor.

Tab. 11: Positiv inotrope und coronardurchflußsteigernde Effekte von N-Acyl-amidomethyl-phenylalkylaminen



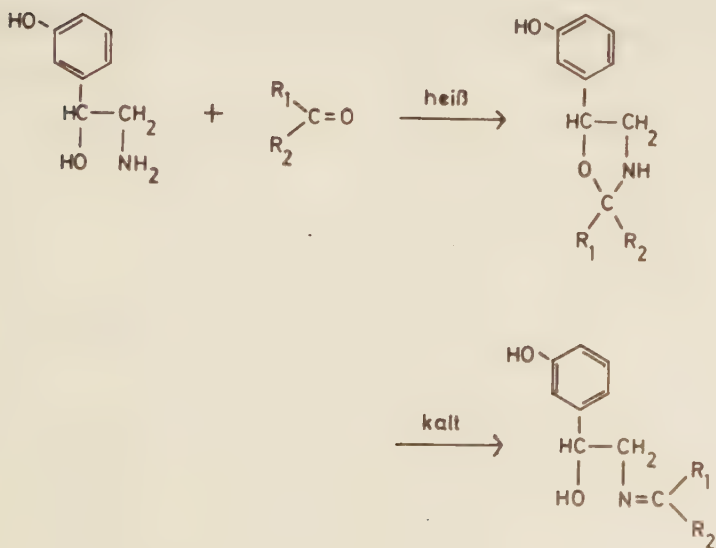
Nr.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	Konfigu- ration	Dosis in µg	Coronar- durchfl. %	Konfraktions- amplitude %	Wirkdauer min
XXIX _a	CH ₃	OH	CH ₃	H	H	H	H	L(+) Ψ	100 200	- 15 - 42	- 33 - 70	5 5
XXXI _a	CH ₃	OH	CH ₃	H	H	H	H	D(-)	50 100 200	- + 17 + 17	+ 17 + 21 + 21	9 11 12
XI	H	OH	H	OH	H	H	H	D,L	100 200	- 20 - 50	- 13 - 30	4 4
XXIII	H	OH	CH ₃	H	H	Cl	H	D(-)	200	-	- 28	3
XXVII	H	H	CH ₃	H	H	OCH ₃	H	D(+)	50	-	- 32	5
XXVI	H	OH	H	H	H	OCH ₃	H	D,L	50 100 200	- + 11 + 45	+ 15 + 22 + 65	4 5 9
XXII	H	OH	CH ₃	H	H	H	Cl	D(-)	50 100 200	- 13 - 15 - 17	- 8 - 11 - 15	4 4 4
XIX	H	OH	CH ₃	H	H	H	OCH ₃	D(-)	200	- 30	- 40	4
XXV	H	OH	CH ₃	H	H	OCH ₃	OCH ₃	D(-)	200	+ 35	+ 10	4
VII	H	OH	CH ₃	H	H	OCH ₃	H	D(-)	100 150 200	+ 15 + 18 + 20	+ 20 + 25 + 25	6 8 8
XX	H	OH	CH ₃	H	H	OC ₂ H ₅	H	D(-)	150	-	- 25	5
XIV	H	OH	CH ₃	H	H	H	H	D(-)	50 100 150	+ 10 + 10 + 10	+ 10 + 20 + 20	5 5 5
XVIII	H	OH	CH ₃	H	OCH ₃	H	H	D(-)	150	-	+ 10	3
XXII	H	OH	CH ₃	H	H	H	Cl	D(-)	100 150	+ 25 + 25	+ 10 + 15	4 4
XXXI _b	CH ₃	OH	CH ₃	H	H	OCH ₃	H	L(+)	50 150	- 10 - 20	- 18 - 25	4 5
XXI	H	OH	CH ₃	H	H	OC ₃ H ₉	H	D(-)	50 150	- 20 - 25	- 25 - 30	4 5

D. SYNTHESE VON OXAZOLIDINEN DES NORFENEFRINS
UND PRÜFUNG AUF VERWENDBARKEIT ALS
CHEMISCHE RETARDFORM VON SYMPHATOMIMETICA

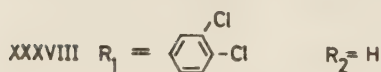
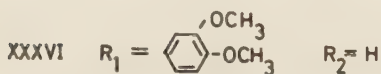
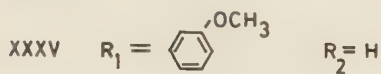
I. SYNTHÈSE

Als weitere Klasse wurden Oxazolidine des Norfenefrins auf ihre Brauchbarkeit als latente Sympatomimetica, d. h. als chemische Retardform des Norfenefrins, geprüft. Eine Untersuchung dieses Verbindungstyps wurde durch die Beobachtung von S. J. Sergievskaya (34) angeregt, daß Oxazolidine aus sekundären Phenylalkanolaminen und Aceton sich durch pressorische Eigenschaften auszeichnen.

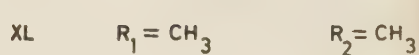
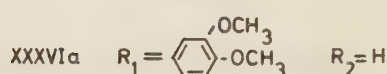
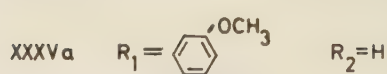
Es wurden folgende Verbindungen durch Kondensation äquimolarer Mengen der entsprechenden Aldehyde bzw. Ketone und Norfenefrin synthetisiert:



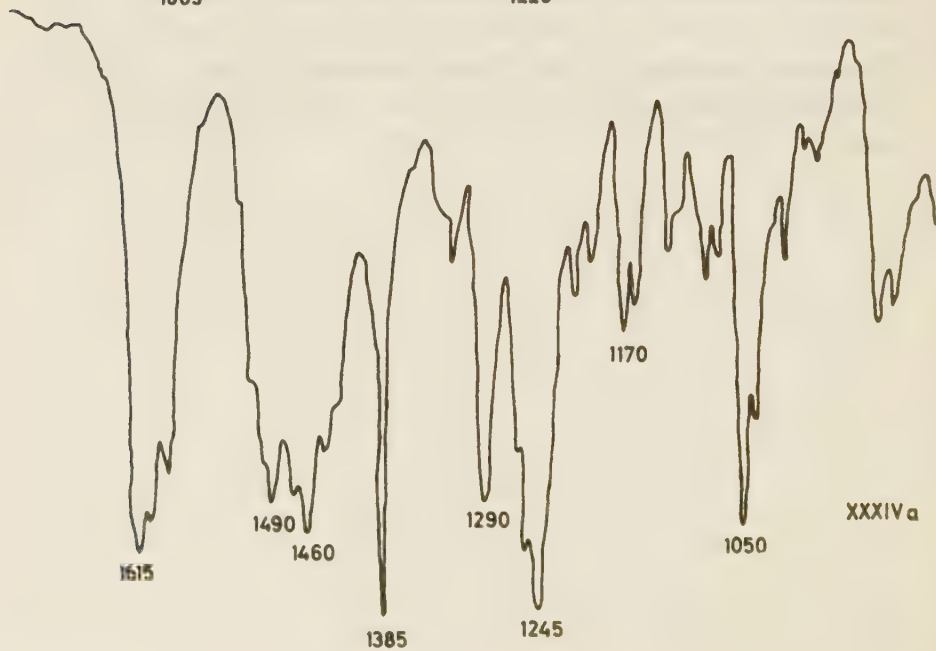
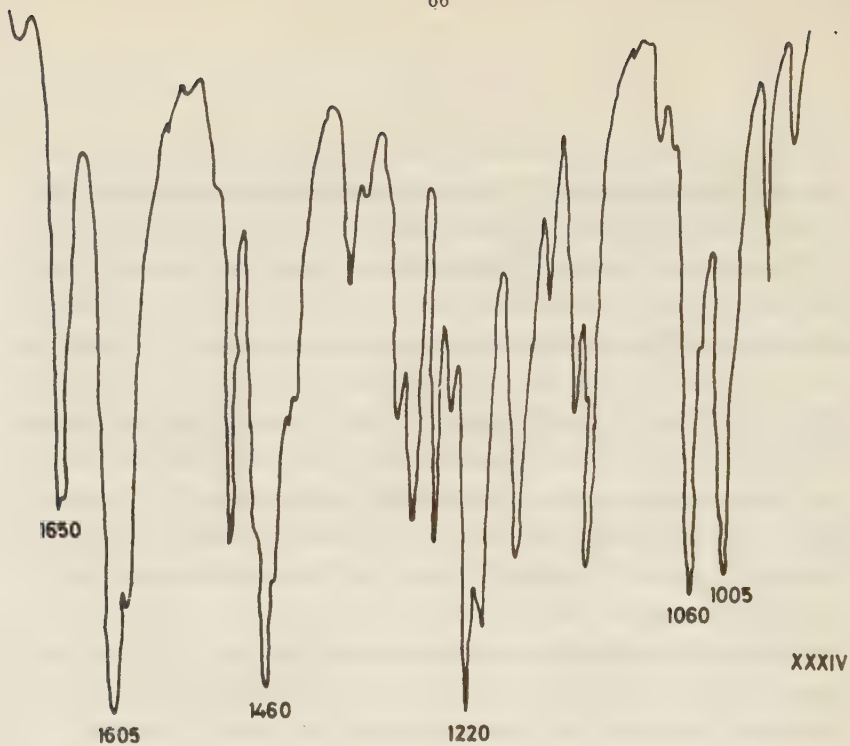
Azomethine



Oxazolidine



Die Umsetzung erfolgte in siedendem Äthanol. Oxazolidine wurden bei der Reaktion mit Aceton, Benzaldehyd, 3-Methoxybenzaldehyd und Veratrumaldehyd erhalten; die Umsetzung mit 4-Chlorbenzaldehyd, 3,4-Dichlorbenzaldehyd und 4-Nitrobenzaldehyd führte nur zu den Schiffschen Basen. Die den Oxazolidinen Nr. XXXIV_a - XXXVI_a entsprechenden Azomethine Nr. XXXIV - XXXVI konnten durch Umsetzung der Aldehyde mit Norfenefrin bei Raumtemperatur erhalten werden. Sie lagern sich in der Hitze in die Oxazolidine um. Gleichartige Befunde werden von D' Amico et al. (35) beschrieben; sie erhielten beim Umsatz von Norfenefrin mit Benzaldehyd je nach Versuchsbedingungen Oxazolidin oder Schiffsche Base. Die erhaltenen Azomethine und Oxazolidine unterscheiden sich im Schmelzpunkt, R_f -Wert und in der Löslichkeit. Der Nachweis der Struktur wurde durch IR-Spektren erbracht. Dabei ist das Fehlen bzw. das Auftreten von Absorptionsbanden im Bereich von 1650 cm^{-1} , dem für C=N-Gruppen in Konjugation zur Phenylgruppe typischen Bereich und den Bereichen 1149 - 1185, 1116 - 1139 und $1086 - 1118\text{ cm}^{-1}$, die für eine O-C-N-Bindung charakteristisch sind, für die Zuordnung zur Azomethin- oder Oxazolidinstruktur entscheidend. Diese Methode wurde von L. W. Daasch u. U. E. Hannin (36) und E. Bergmann, E. Zimkin u. S. Pinchas (37) eingeführt, die beim Umsatz aliphatischer Aldehyde mit Aminoalkoholen Oxazolidine und beim Einsatz aromatischer Aldehyde Azomethine erhielten.



IR-Spektren der Verbindungen XXXIV und XXXIV_a. KBr-Pressling

II. PHARMAKOLOGISCHE PRÜFUNG

Die Oxazolidine (XL und XXXIV_a - XXXVI_a) sind lipoidlöslicher als Norfenefrin. Es ist möglich, daß sie bei peroraler Applikation besser resorbiert werden und im Blutserum eine langsame Hydrolyse zur Schiffschen Base und schließlich zum Norfenefrin erfahren.

Zur Überprüfung dieser Annahme wurden die Oxazolidine Nr. XXXIV_a - XXXVI_a zusammen mit ihren analogen Azomethinen Nr. XXXIV - XXXVI in einem Vorversuch auf ihre Blutdruckwirkung an der Katze untersucht. Es wurden jeweils $0,5 \times 10^{-6}$ und 1×10^{-6} Mol/kg gegeben. Die Oxazolidinderivate zeigten keine Wirkung. Mit den Azomethinen konnten dagegen Blutdrucksteigerungen erzielt werden. Der Verlauf der Blutdruckkurve war dem mit einer äquimolaren Menge Norfenefrin erzielten ähnlich. Eine Verlängerung der Wirkungsdauer wurde nicht beobachtet. Die Ergebnisse der pharmakologischen Testung erklären sich vermutlich durch die unterschiedliche Stabilität der Oxazolidine und Azomethine. Eine weitere Prüfung wurde mit der Substanz Nr. XL (von Herrn Dr. Credner, Diwag Chemische Fabriken GmbH) am Katzenblutdruck vorgenommen. Auch mit dieser Verbindung konnte keine Veränderung des Blutdrucks beobachtet werden.

E. UNTERSUCHUNGEN ZUR SYNTHESE ADRENOMIMETISCHER UND ANTIMIKROBIELLER D, L 2-AMINO-1-(3'-HYDROXY-4'-ALKYLAMINOMETHYLPHENYL)-ÄTHAN-1-OL-DERIVATE

I. THEORETISCHE BETRACHTUNGEN

Auf die wesentlichen Strukturmerkmale der Katecholamin-Derivate und der davon abhängigen α - oder β -mimetischen Eigenschaften wurde in Abschnitt C hingewiesen.

Für die α - und β -mimetischen Katecholamine wurde von Belleau (38) ein Rezeptormodell entwickelt, das in den letzten Jahren von Bloom u. Goldman (39) modifiziert wurde. Nach diesen Vorstellungen handelt es sich beim α - und β -Rezeptor um selbständige Einheiten mit großer struktureller Ähnlichkeit, die als Ursache für die dualistische Wirkung der Katecholamine angesehen werden. Man nimmt an, daß es sich um 2 verschiedene phosphorolytische Enzymsysteme (Mg^{++} -aktivierte ATPase und Adenylcyclase) handelt, die durch Katecholamine aktiviert werden. Diese Enzym-ATP-Komplexe (α - und β -Rezeptoren) werden durch die katalytische Einwirkung von Katecholaminen zerstört und durch Aufnahme von ATP wieder regeneriert (Dynamischer Rezeptor).

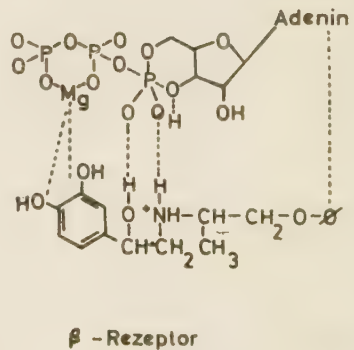
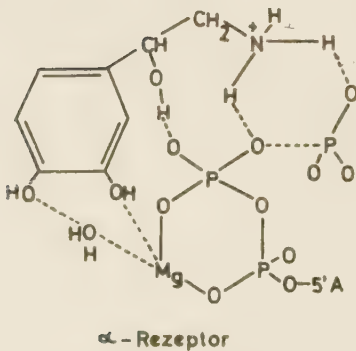


Abb. 26: α - und β -mimetischer Angriff von Katecholamin-Derivaten am spezifischen Enzym-Substrat-Komplex (nach Nr. 39).

Die α -Rezeptor-Wirkung wird mit einer Spaltung von ATP zu ADP und Phosphat unter katalytischer Beeinflussung von Katecholaminen als Primärschritt erklärt. Der nukleophile Angriff einer aktiven Stelle in der Mg^{++} -aktivierten ATPase auf die terminale Phosphatgruppe des ATP wird durch die protonierte Aminfunktion z.B. des Adrenalins erleichtert. Das sich bildende Zwischenprodukt zerfällt in ADP, Mg^{++} , Adrenalin und ATPase. Die in Abb. 26 aufgeführte Komplexbildung ist bei Katecholaminen mit größeren Substituenten am Stickstoff aus sterischen Gründen behindert, was als Grund für die vorwiegend β -mimetische Wirkung solcher Verbindungen angesehen wird. Die für die katalytische Funktion der Katecholamine erforderliche Orientierung zu ATP wird durch eine Wechselbeziehung der alkoholischen OH-Gruppe zur mittleren Phosphorsäure und der beiden phenolischen OH-Gruppen über Mg^{++} zur 1. und 2. Phosphorsäure optimiert.

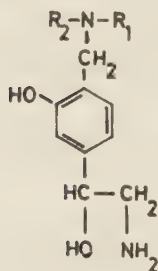
Die β -mimetische Wirkung wird mit einer Überführung von ATP in cyclisches 3', 5' -AMP durch Adenylcyclase unter katalytischer Mitwirkung von Katecholaminen erklärt.

Die Aminogruppe erleichtert durch Neutralisation der anionischen Ladung am Phosphat-Sauerstoff den innermolekularen Angriff der 3'-OH-Gruppe der Ribose auf den innersten Phosphatrest, wodurch die Energieschwelle für den nukleophilen Angriff erniedrigt wird. Die Größe des N-ständigen Substituenten wirkt sich auf diesen Vorgang weniger nachteilig als im Falle der α -Rezeptor-Wechselbeziehung aus. Mit zunehmender Größe dieses Restes wird im Gegenteil die β -agonistische Wirkung durch schnellere Orientierung von Katecholamin zu ATP erleichtert.

Die alkoholischen und die phenolischen OH-Gruppen tragen, obwohl für die β -mimetische Wirkung nicht essentiell, durch H-Brückenbeziehung zum Sauerstoff der Phosphatgruppe und durch Bildung eines Mg^{++} -Komplexes zwischen ATP und Katecholamin zur Stabilität und so zur Beschleunigung der Cyclo-AMP-Bildung bei.

II. SYNTHESE

Die Kenntnisse über die Struktur-Wirkungsbeziehungen adrenomimetischer β -Phenyläthylamine und die Vorstellung zum molekularen Wirkungsmechanismus solcher Verbindungen veranlaßten uns, folgende Verbindungen herzustellen:



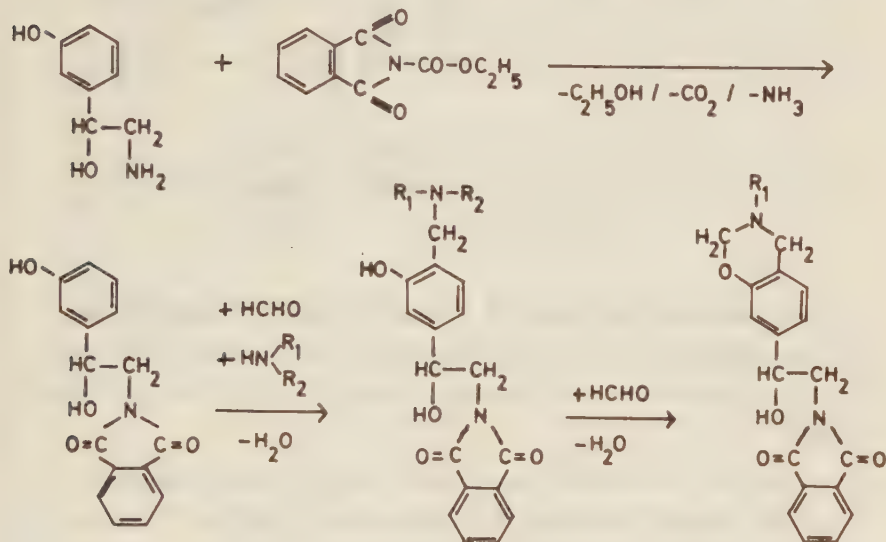
$R_1 = \text{Cyclohexyl}, R_2 = \text{H}$	(XLII _b)	Konf. D, L
$R_1 = \text{Isopropyl}, R_2 = \text{H}$	(XLIII _b)	Konf. D, L
$R_1 = \text{Äthyl}, R_2 = \text{Äthyl}$	(XLIV _b)	Konf. D, L

Die Verbindungen besitzen die für das Auftreten von α -mimetischen Eigenschaften essentielle Aminogruppe und eine alkoholische OH-Gruppe, welche die Bildung des dynamischen Rezeptor-Komplexes begünstigt. In der 3'-Hydroxy-4'-aminomethyl-phenyl-Struktur liegt eine Gruppierung vor, die wie die Brenzkatechin-Gruppe zur Bildung von Komplexen mit Metallionen befähigt ist. Der Nachweis einer derartigen Komplexbildung für α -Amino-o-kresole wurde von uns in einem anderen Zusammenhang beschrieben (40). Es war daher anzunehmen, daß diese Gruppierung zu einer gleichartigen Verstärkung der Mg^{++} -vermittelten Wechselbeziehung zu ATP führen wird. Wir erwarten uns von den Verbindungen Nr. XLII_b, XLIII_b und XLIV_b dem Noradrenalin vergleichbare Wirkungsqualitäten.

Zur Synthese der am Ring aminomethylierten Norfenefrin-Derivate führten wir zuerst mit Hilfe von Carbäthoxyphthalimid die Phthalylschutzgruppe ein. Phthalyl-norfenefrin wurde mit Formaldehyd und den entsprechenden Aminen in gleichen Molverhältnissen umgesetzt. Im Falle der Umsetzung mit Isopropyl- bzw. Cyclohexylamin wurde neben den ringoffenen Verbindungen Nr. XLII und XLIII in geringen Mengen auch die entsprechenden Benzoxazine XLII_a und XLIII_a erhalten. Sie bilden sich nahezu quantitativ bei Verwendung von 2 Val Formaldehyd. Durch Kochen der Benzoxazine mit verdünnter HCl lassen sich die entsprechenden Mannich-

Verbindungen herstellen.

Aus den D, L N-Phthalyl-2-amino-1-(3'-hydroxy-4'-alkylaminomethyl-phenyl)-äthan-1-ol-Derivaten wurden durch hydrazinolytische Spaltung in CHCl_3 /Dioxan die gewünschten Endprodukte Nr. XLII_b, XLIII_b und XLIV_b erhalten.



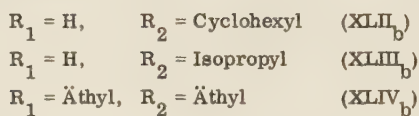
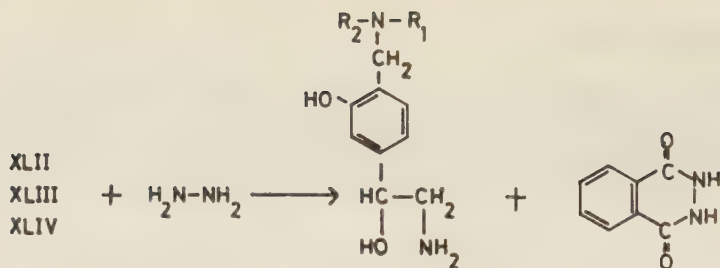
$\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{Cyclohexyl}$ (XLII)

$\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{Isopropyl}$ (XLIII)

$\text{R}_1 = \text{Äthyl}$, $\text{R}_2 = \text{Äthyl}$ (XLIV)

$\text{R}_1 = \text{Cyclohexyl}$ (XLII_a)

$\text{R}_1 = \text{Isopropyl}$ (XLIII_a)



Da eine antimikrobielle Wirkung von α -Amino-o-kresol-Derivaten und Benzoxazinen bekannt ist, wurden die Verbindungen XLII, XLIII, XLIV, XLIII_a und XLII_a auf ihre antimikrobielle Wirkung an verschiedenen Bakterien- und Pilzarten geprüft.

Von den Substanzen waren die Benzoxazine Nr. XLII_a und XLIII_a in Konzentrationen bis 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ bakteriostatisch und fungistatisch wirksam. Die α -Amino-o-kresol-Derivate Nr. XLII, XLIII und XLIV zeigten keine Wirkung.

Über Untersuchungen zur adrenomimetischen Wirkung der Verbindungen Nr. XLII_b - XLIV_b wird an anderer Stelle berichtet werden.

Tab. 12: Antimikrobielle Wirkung von N-Phthalyl-2-amino-1-(3'-hydroxy-4'-alkylaminomethylphenyl)-äthan-1-ol- und 2H-1,3-Benzoxazin-Derivaten

Teststamm	Grenzkonzentration in µg/ml				
	XLIV	XLII	XLII _a	XLIII	XLIII _a
Staphylococcus aureus (Test Varia)	> 1000	> 1000	500	> 1000	1000
Enterococcus (E 6666-65)			500		1000
Streptococcus pyogenes (E)			500		500
Escherichia coli haemolyt. (E)			1000		1000
Proteus providenciae (E)			500		500
Pseudomonas aeruginosa (pyocyanea) (E 7250)			1000		> 1000
Salmonella typhimurium (E)			500	> 1000	1000
Wasser Vibrionen (E)			500	500	500
Bacillus subtilis (E)			500	> 1000	1000
Klebsiella pneumoniae (E 5803-65)			500		1000
Shigella flexneri (E/733-55 D/O Bus.)			500		1000
Candida albicans (E)			500		1000
Microsporium audouinii (HK-1328)			> 1000		> 1000
Microsporium distortum George (HK)			250		500
Microsporium canis (HK-312)			-		500
Microsporium gypseum (Pl)			-		500
Microsporium gypseum (HK CBS Bodin)			500		1000
Microsporium (E)			500		1000
Trichophyton rubrum (HK 1604)			500		250
Trichophyton Schönleinii (Pl)			250		500
Trichophyton Schönleinii (HK-1124)			1000		1000
Trichophyton mentagrophytes (Pl)			500	> 1000	1000
Trichophyton mentagrophytes (HK-455)			500	1000	500
Epidermophyton floccosum (Pl)			500	1000	500
Epidermophyton floccosum (HK-3766)			-		250
Sporotrichum Schenkii (Pl)			1000	> 1000	1000
Nocardia asteroides (E)				> 1000	500
Streptomyces (E)	> 1000	> 1000	500	> 1000	1000

F. EXPERIMENTELLER TEIL

I. N-DIPHENYLACETAMIDOMETHYL-TRIALKYLAMMONIUMJODIDE

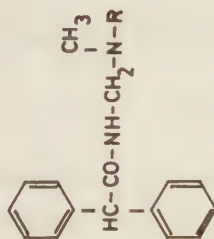
1. Synthese der tertiären acylierten Aminale

21 g (0,1 Mol) Diphenylacetamid, 3,3 g (0,11 Mol) Paraformaldehyd und 0,1 Mol Methylalkylamin werden in 100 ml Äthanol gelöst und 2 Stunden am Rückfluß erhitzt. Anschließend wird filtriert. Beim Erkalten kristallisiert das Endprodukt aus. Durch Eindampfen der Mutterlauge gewinnt man eine 2. Charge. Beide werden zusammen aus Äthanol umkristallisiert und mittels der Untersuchung (Fließmittel II) auf Reinheit geprüft.

Die Ausbeuten liegen nach der Umkristallisation bei 80 %.

Nähere Daten siehe Tab. 13.

Tab. 13: Angaben zur Synthese der tertiären acylierten Amine



Nr.	R	Formel	Mol. - Gew.	Schmp. °C	C		H		N	
					Ber.	Gef.	Ber.	Gef.	Ber.	Gef.
I _a	CH ₃	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O	268,4	166	76,09	75,86	7,51	7,60	10,44	10,63
V _a	C ₄ H ₉	C ₂₀ H ₂₆ N ₂ O	310,4	113 - 114	77,38	77,10	8,44	8,39	9,02	9,00
V _b	C ₅ H ₁₁	C ₂₁ H ₂₈ N ₂ O	324,5	106	77,74	77,34	8,69	8,61	8,63	8,53
V _c	C ₆ H ₁₃	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O	338,5	105	78,07	77,45	8,93	8,83	8,28	8,31
V _d	C ₇ H ₁₅	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O	352,5	96 - 97	78,37	78,35	9,15	9,12	7,95	7,92
V _e	C ₈ H ₁₇	C ₂₄ H ₃₄ N ₂ O	366,6	95 - 96	78,64	78,62	9,35	9,23	7,64	7,68
V _f	C ₉ H ₁₉	C ₂₅ H ₃₆ N ₂ O	380,6	100	78,91	79,00	9,54	9,53	7,30	7,38
V _g	C ₁₀ H ₂₁	C ₂₆ H ₃₈ N ₂ O	394,6	99 - 100	79,14	79,10	9,71	9,48	7,10	7,10

2. Synthese der quartären acylierten Aminale

N-Diphenylacetamidomethyl-trimethylammoniumjodid (I_b)

13 g (0,05 Mol) N-Diphenylacetamidomethyl-dimethylamin werden in 30 ml Äthanol gelöst. Unter Eiskühlung fügt man 7,2 g (0,05 Mol) Methyljodid hinzu und läßt 12 Stunden unter Lichtausschluß bei Raumtemperatur stehen. Danach werden die erhaltenen Kristalle abfiltriert und aus Äthanol umkristallisiert.

Schmp. 222°C

Ausbeute 75 % d. Th.

 $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}$ (410,3)

Ber.: C 52,69 H 5,65 N 6,82 J 30,93

Gef.: C 52,83 H 5,72 N 6,64 J 30,36

N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyläthylammoniumjodid (I_c)

Die Herstellung und Aufarbeitung erfolgte wie bei Subst. I_b mit $\text{C}_2\text{H}_5\text{J}$ als Quartärnierungsmittel.

Schmp. 187°C

Ausbeute 75 % d. Th.

 $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}$ (424,3)

Ber.: C 53,78 H 6,17 N 6,60 J 29,90

Gef.: C 53,26 H 5,94 N 6,36 J 28,57

N-Diphenylacetamidomethyl-dimethylpropylammoniumjodid (I_d)

Die Herstellung erfolgt wie bei Subst. I_b mit Propyljodid als Quartärnierungsmittel. Die Aufarbeitung erfolgte nach 3-tägigem Stehen.

Schmp. 193°C

Ausbeute 70 % d. Th.

 $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}$ (438,4)

Ber.: C 54,80 H 6,21 N 6,39 J 28,95

Gef.: C 54,42 H 6,21 N 6,34 J 28,26

N-Diphenylacetamidomethyl-dimethylbutylammoniumjodid (I_e)

10,0 g (0,033 Mol) N-Diphenylacetamidomethyl-methyl-butylamin werden in wenig Äthanol gelöst. Unter Eiskühlung fügt man 4,6 g (0,033 Mol) Methyljodid hinzu und läßt einige Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtausschluß stehen. Danach versetzt man unter Umschütteln vorsichtig mit Äther, bis die klare Lösung eben trüb wird. Nach Anreiben mit einem Glasstab setzt Kristallisation ein. Man läßt noch 12 Stunden im Kühlschrank stehen, filtriert die erhaltenen Kristalle ab und kristallisiert aus Äthanol/Äther um.

Schmp. 107°C

Ausbeute 70 % d. Th.

$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{JN}_2\text{O}$ (452,8)

Ber.: C 55,75 H 6,46 N 6,19 J 28,05

Gef.: C 54,98 H 6,48 N 6,14 J 27,35

N-Diphenylacetamidomethyl-dimethylpentylammoniumjodid (I_f)

Herstellung und Aufarbeitung erfolgte wie bei Subst. I_e .

Schmp. 118°C

Ausbeute 65 % d. Th.

$\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{JN}_2\text{O}$ (466,4)

Ber.: C 56,66 H 6,70 N 6,00 J 27,23

Gef.: C 56,25 H 6,70 N 5,87 J 27,19

N-Diphenylacetamidomethyl-dimethylhexylammoniumjodid (I_g)

Herstellung und Aufarbeitung erfolgte wie bei Subst. I_e .

Schmp. 124°C

Ausbeute 65 % d. Th.

$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{JN}_2\text{O}$ (480,4)

Ber.: C 57,50 H 6,92 N 5,83 J 26,44

Gef.: C 57,18 H 6,91 N 5,76 J 25,54

N-Diphenylacetamidomethyl-dimethylheptylammoniumjodid (I_h)

Herstellung und Aufarbeitung erfolgte wie bei Subst. I_e .

Schmp. 112°C

Ausbeute 62 % d. Th.

$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{JN}_2\text{O}$ (494,5)

Ber.: C 58,30 H 7,00 N 5,66 J 25,67

Gef.: C 58,00 H 7,06 N 5,57 J 24,98

N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyloctylammoniumjodid (I_i)

Herstellung und Aufarbeitung erfolgte wie bei Subst. I_e .

Schmp. 135°C

Ausbeute 60 % d. Th.

$\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}$ (508, 5)

Ber.: C 59,05 H 7,33 N 5,50 J 24,96

Gef.: C 58,68 H 7,20 N 5,38 J 24,23

N-Diphenylacetamidomethyl-dimethylnonylammoniumjodid (I_k)

Herstellung und Aufarbeitung erfolgte wie bei Subst. I_e .

Schmp. 125°C

Ausbeute 56 % d. Th.

$\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}$ (522, 5)

Ber.: C 59,76 H 7,52 N 5,36 J 24,28

Gef.: C 59,69 H 7,48 N 5,32 J 24,63

N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyldecylammoniumjodid (I_l)

Herstellung und Aufarbeitung erfolgte wie bei Subst. I_e .

Schmp. 118°C

Ausbeute 55 % d. Th.

$\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}$ (536, 5)

Ber.: C 60,44 H 7,70 N 5,22 J 23,65

Gef.: C 60,00 H 7,76 N 5,30 J 23,42

3. Spektrophotometrische Bestimmung der Stabilität der Substanzen I_c und I_i

Die Verbindungen I_c u. I_i zeigen im Bereich von 270 - 250 nm ausgeprägte Absorptionsbanden mit einem Extinktionsmaximum bei 268 nm. Bei diesen Wellenlängen sind die Anforderungen des Bouguer-Lambert-Beerschen-Gesetzes in einem Extinktionsbereich von 0,1 - 0,9 erfüllt. Zur Bestimmung der Eichgeraden wurden Stammlösungen von 1×10^{-3} M/l hergestellt. Als Lösungsmittel diente eine Mischung von äthergesättigtem Wasser mit Methanol (50 : 50). Mit demselben Lösungsmittel wurden Verdünnungsreihen bereitet. Mit Hilfe eines Beckmann DK 2-Gerätes wurden sofort die Absorptionsbanden aufgenommen.

Zur Bestimmung der Hydrolyse wurden 1×10^{-4} Mol Substanz in 50 ml mit Äther abgesättigtem Wasser gelöst und die filtrierte Lösung 3 mal mit Äther ausgeschüttelt. 1,5 ml der wäßrigen Phase wurden mit 1,5 ml Methanol verdünnt. Davon wurde sofort die Absorptionsbande aufgenommen. Im Abstand von 6 Stunden wurde die oben beschriebene wäßrige Lösung ausgeschüttelt und vermessen. Die Messungen erfolgten über einen Zeitraum von 4 Tagen.

Tab. 14: Absorptionsmaxima der Substanzen in Wasser/Methanol

Substanzen		Maxima nm (λ)	Mittlerer molarer Extinktions- koeffizient ⁺⁾ $\frac{\epsilon}{\text{Liter}} \cdot \text{mol} \cdot \text{cm}$	$\log \epsilon$
(I_c)	N-Diphenylacetamidomethyl- dimethyläthylammoniumjodid	268,0	665	2.82282
(I_i)	N-Diphenylacetamidomethyl- dimethyloctylammoniumjodid	268,0	830	2.91908

⁺⁾ Temperatur 20°C

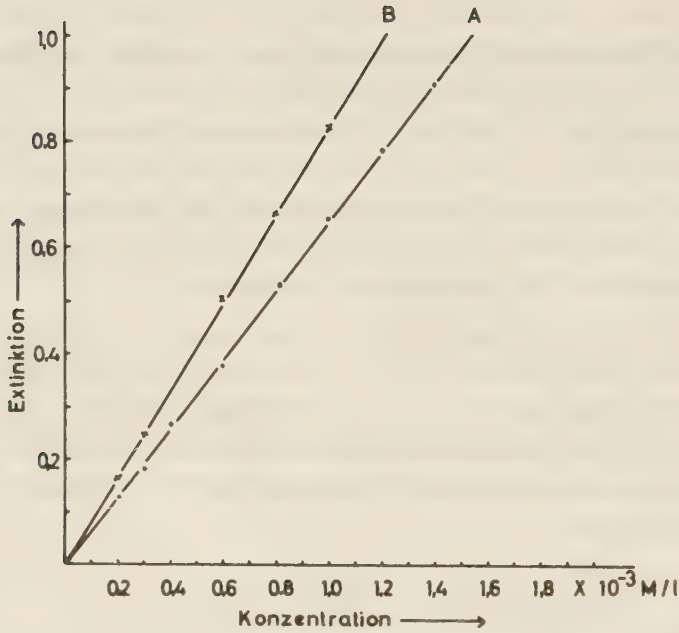


Abb. 27: Eichkurven der Extinktion in Abhängigkeit von der Konzentration

Eichkurve A: N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyläthyl-ammonium-jodid (I_C) ($\lambda = 268,0 \text{ nm}$);

Eichkurve B: N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyloctyl-ammonium-jodid (I_I) ($\lambda = 268,0 \text{ nm}$).

4. Bestimmung der Dissoziationskonstanten des Rezeptor-Spasmogen-Komplexes K_S und der Hemmungskonstanten K_J

a) Nach Lineweaver u. Burk (8)

Zur Bestimmung von K_S und K_J von I_{b-e} wird statt der von van Rossum (7) und Ariens u. Simonis (41) für die Muskelphysiologie übertragene Michaelis u. Menten-sche Gleichung (42)

$$v = v_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_S}$$

$v_{\max}$ = max. Kontraktionsstärke
 $[S]$ = ACH-Konzentration
 v = Kontraktionsstärke
 K_S = Dissoziationskonstante des Wirkstoff-Rezeptor-Komplexes

deren reziproker Ausdruck genommen:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{[S]} \cdot \frac{K_S}{v_{\max}} + \frac{1}{v_{\max}}$$

Diese Zuordnung der reziproken Geschwindigkeit zur reziproken Substratkonzentration ergibt eine Gerade.

Daraus läßt sich die Konstante K_S errechnen, wenn $\frac{1}{v} = 0$ ist.

$$\frac{1}{v_{\max}} = -\frac{1}{[S]} \cdot \frac{K_S}{v_{\max}}$$

$$K_S = -[S]$$

Zur Bestimmung der Hemmungskonstanten K_J erweitert sich die Gleichung um den Hemmungsfaktor i .

$$i = \left(1 + \frac{[J]}{K_J}\right) \quad [J] = \text{Inhibitorkonzentration}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_S \cdot i}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Für $\frac{1}{v} = 0$ ist

$$-\frac{1}{[S]} = \frac{1}{K_S \left(1 + \frac{[J]}{K_J}\right)} \quad K_J = \frac{[J] \cdot K_S}{[S] - K_S}$$

b) Nach Dixon (9)

Zur Bestimmung der K_J -Werte von I_{f-1} werden die reziproken Werte von v auf der Ordinate und die von $[J]$ auf der Abszisse aufgetragen. Die sich ergebenden Geraden besitzen verschiedene Neigungen und schneiden sich in einem Punkt links der Ordinate. Der Schnittpunkt liegt bei $K_J = [-J]$.

II. N-BENZAMIDOMETHYL- UND N-DIPHENYLACETAMIDOMETHYL-PHENYLALKYLAMINE

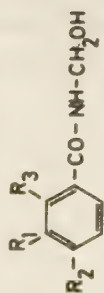
1. Synthese der N-Hydroxymethyl-carbonsäureamide (48)

0,3 Mol Amid und 0,5 Mol wäßrige Formalinlösung (35 %) werden in 300 ml Dioxan gelöst. Nach dem Zusatz von 20 g K_2CO_3 erhitzt man 20 Min. unter Rühren auf 80°C. Anschließend wird filtriert und das Dioxan mit Wasser versetzt. Die nach 12-stündigem Stehen ausgefallenen Kristalle werden abgenußt und aus Äthanol/Wasser umkristallisiert. Die Kontrolle auf quantitative Umsetzung und chemische Reinheit erfolgt mittels der Untersuchung im Fließmittelsystem Nr. II. Die Ausbeuten liegen nach der Umkristallisation um 80 %.

2. Synthese der N-Chlormethyl-carbonsäureamide (48)

0,1 Mol N-Hydroxymethyl-carbonsäureamid wird in 25 ml absolutem Äther in einem mit $CaCl_2$ -Rohr versehenen Kolben suspendiert. Unter Eiskühlung wird unter Umschütteln in kleinen Anteilen mit 0,1 Mol PCl_5 versetzt. Man läßt eine Stunde bei Zimmertemperatur und anschließend nochmals eine Stunde zur vollständigen Kristallisation im Kühlschrank stehen. Die Verbindung wird abgesaugt, 2-3 mal mit kaltem Äther nachgewaschen und sofort weiterverarbeitet.

Tab. 15: Angaben zur Synthese der N-Hydroxymethyl-carbonsäureamide



Nr.	R			Formel	Mol. -Gew.	Schmp. °C	C		H		N	
	1	2	3				Ber.	Gef.	Ber.	Gef.	Ber.	Gef.
XLV	H	H	H	$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$	151,2	104 - 106	63,52	63,42	5,99	5,86	9,27	9,31
XLVI	OCH_3	H	H	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$	181,2	95	59,65	60,03	6,12	6,11	7,73	8,01
XLVII	H	OCH_3	H	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$	181,2	123 - 124	59,65	59,81	6,12	6,05	7,73	7,79
XLVIII	Cl	H	H	$\text{C}_8\text{H}_8\text{NO}_2\text{Cl}$	185,6	117	51,72	51,52	4,34	4,43	7,55	7,52
IL	H	Cl	H	$\text{C}_8\text{H}_8\text{NO}_2\text{Cl}$	185,6	124	51,72	51,60	4,34	4,40	7,55	7,40
L	CH_3	H	H	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$	165,2	109	65,44	65,23	6,71	6,69	8,48	8,47
LI	OCH_3	OCH_3	H	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_4$	211,2	122 - 124	56,86	56,77	6,20	6,14	6,63	6,80
LII	OC_2H_5	H	H	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_3$	195,2	106 - 107	61,52	61,60	6,71	6,72	7,18	7,18
LIII	OC_3H_7	H	H	$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_3$	209,3	113 - 115	63,13	63,27	7,23	7,11	6,69	6,89
LIV	N-Hydroxymethyl-diphenylacetamid			$\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NO}_2$	241,3	122	74,66	75,12	6,27	6,10	5,81	5,92

3. Synthese der N-Carbonamidomethyl-phenylalkylamine

0,03 Mol Phenylalkylamin und 0,06 Mol Triäthylamin werden in 100 ml Methylenchlorid gelöst. 0,04 Mol des nach 2. erhaltenen Chlormethyl-carbonsäureamids werden in 100 ml Methylenchlorid suspendiert und unter Kühlung und Umschütteln in kleinen Anteilen zu der Aminlösung gegeben. Man läßt einige Stunden bei Raumtemperatur stehen und arbeitet den Ansatz nach A oder B auf:

A.

Der Reaktionsansatz wird 3 mal mit 25 ml verdünnter HCl ausgeschüttelt. Die HCl-sauren, wäßrigen Phasen werden verworfen. Danach schüttelt man 5 bis 6 mal mit 20 ml H_2O aus. Diese Fraktionen werden vereinigt und bis zum Eintreten einer Trübung mit Salzsäure versetzt. Bei anschließender Kühlung und Anreiben fällt das Endprodukt nahezu analysenrein an. Die Reinheitskontrolle erfolgt mittels dc Untersuchung im FM I.

B.

Der Reaktionsansatz wird 3 mal mit 25 ml verdünnter HCl ausgeschüttelt. Die wäßrigen Phasen werden verworfen. Danach schüttelt man 5 - 6 mal mit 20 ml H_2O aus. Die einzelnen wäßrigen Fraktionen werden sofort mit Ammoniak alkalisiert und mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Die vereinigten Lösungen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird in wenig Methanol aufgenommen und zur Bildung des Hydrochlorids mit Äther/HCl versetzt. Die Umkristallisation erfolgt aus Alkohol/Äther. Die Reinheit wird mittels dc Untersuchung im FM I geprüft.

Nähere Daten der nach A und B erhaltenen Substanzen siehe Tab. 16.

Tab. 16: N-Benzamidomethyl-phenylalkylamine

Nr.	Verbindung	Aus- beute %	Formel	Mol.-Gew.	Schmp. °C	Elementaranalyse C H N
XXIX ^a	N-Benzamidomethyl-D(-)-ephedrin · HCl	42	$C_{18}H_{21}N_2O_2 \cdot HCl$	334,9	134	Ber. 64,56 6,92 8,36 Gef. 64,22 6,89 8,30
XXIX ^b	N-Benzamidomethyl-L(+)-ephedrin · HCl	35	$C_{18}H_{21}N_2O_2 \cdot HCl$	334,9	130	Ber. 64,56 6,92 8,36 Gef. 64,25 6,96 8,42
XXIX ^c	Benzamidomethyl-D(-)-ψ-ephedrin	50	$C_{18}H_{21}N_2O_2$	298,4	88 - 91	Ber. 72,45 7,77 9,38 Gef. 71,75 7,40 9,35
XXIX ^d	N-Benzamidomethyl-L(+)-ψ-ephedrin	30	$C_{18}H_{21}N_2O_2$	298,4	88 - 89	Ber. 72,45 7,77 9,38 Gef. 72,40 7,41 9,16
XIV	N-Benzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl	35	$C_{17}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$	320,8	132	Ber. 64,18 6,65 8,81 Gef. 63,73 6,61 8,67
	N-Benzamidomethyl-L(+)-nor-ψ-ephedrin · HCl	40	$C_{17}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$	320,8	133	Ber. 64,18 6,65 8,81 Gef. 63,45 6,63 8,60
XL	N-Benzamidomethyl-D, L-norfenefrin · HCl	15	$C_{16}H_{18}N_2O_3$	323,8	154 - 155	Ber. 59,66 5,90 8,25 Gef. 60,17 5,92 8,08
XXX	o-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-ephedrin · HCl	25	$C_{19}H_{24}N_2O_3 \cdot HCl$	364,9	135	Ber. 62,54 6,90 7,86 Gef. 62,55 6,88 7,66
XVIII	o-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl	12	$C_{18}H_{22}N_2O_3 \cdot HCl$	350,9	135	Ber. 61,62 6,60 7,98 Gef.
XXXII	p-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-ephedrin · HCl	40	$C_{19}H_{24}N_2O_3 \cdot HCl$	364,9	121	Ber. 62,54 6,90 7,85 Gef. 62,38 7,04 7,55
XIX	p-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl	40	$C_{18}H_{22}N_2O_3 \cdot HCl$	350,9	138 - 139	Ber. 61,62 6,60 7,98 Gef. 61,19 6,58 7,94
XXXI ^a	m-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-ephedrin · HCl	45	$C_{19}H_{24}N_2O_3 \cdot HCl$	364,9	126	Ber. 62,54 6,90 7,85 Gef. 62,29 7,39 7,64
XXXI ^b	m-Methoxybenzamidomethyl-L(+)-ephedrin · HCl	55	$C_{19}H_{24}N_2O_3 \cdot HCl$	364,9	120	Ber. 62,54 6,90 7,85 Gef. 62,35 6,87 7,67
VII	m-Methoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl	75	$C_{18}H_{22}N_2O_3 \cdot HCl$	350,9	134 - 135	Ber. 61,62 6,60 7,98 Gef. 61,38 6,52 7,97

Tab. 16: (Fortsetzung)

Nr.	Verbindung	Aus- beute %	Formel	Mol.-Gew.	Schmp. °C	Elementaranalyse C H N
XXVII	m-Methoxybenzamidomethyl-D-(+)-amphetamin · HCl	75	$C_{18}H_{22}N_2O_3 \cdot HCl$	324,9	123	Ber. 64,56 6,90 8,37 Gef. 63,75 6,86 8,26
XXVI	m-Methoxybenzamidomethyl-phenyläthanolamin · HCl	15	$C_{17}H_{20}N_2O_3 \cdot HCl$	336,8	143 - 144	Ber. 60,62 6,28 8,32 Gef. 60,52 6,30 8,31
XXVIII	m-Methoxybenzamidomethyl-phenyläthylamin · HCl	55	$C_{17}H_{20}N_2O_3 \cdot HCl$	352,9	126	Ber. 59,60 7,11 7,32 Gef. 59,73 7,07 7,15
XX	m-Äthoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl · H ₂ O	37	$C_{19}H_{24}N_2O_4 \cdot HCl \cdot H_2O$	320,8	172	Ber. 63,65 6,59 8,73 Gef. 63,60 6,77 8,67
XXI	m-Propoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl · H ₂ O	35	$C_{20}H_{26}N_2O_4 \cdot HCl \cdot H_2O$	336,9	121	Ber. 60,52 7,11 7,06 Gef. 60,85 7,39 7,09
XXII	p-Chlorbenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl	50	$C_{17}H_{19}N_2O_3 \cdot HCl$	355,3	137 - 140	Ber. 57,48 5,87 7,88 Gef. 57,50 5,79 7,87
XXIII	m-Chlorbenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl	40	$C_{17}H_{19}N_2O_3 \cdot HCl$	348,9	123	Ber. 65,41 7,35 7,83 Gef. 65,18 7,35 7,83
XXXIII	m-Tolylbenzamidomethyl-D(-)-ephedrin · HCl	35	$C_{19}H_{23}N_2O_3 \cdot HCl$	355,3	139	Ber. 57,48 5,87 7,88 Gef. 57,50 5,82 8,02
XXIV	m-Tolylbenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl	40	$C_{18}H_{22}N_2O_3 \cdot HCl$	334,9	130	Ber. 64,56 6,92 8,37 Gef. 63,95 7,10 7,99
XXV	3,4-Dimethoxybenzamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl	70	$C_{19}H_{24}N_2O_4 \cdot HCl$	380,9	123 - 125	Ber. 59,92 6,62 7,36 Gef. 60,00 6,63 7,22
XIII	m-Äthoxybenzamidomethyl-D, L-norfenefrin · HCl	20	$C_{18}H_{22}N_2O_3 \cdot HCl$	366,8	161	Ber. 58,94 6,32 7,64 Gef. 59,23 6,18 7,39
XII	m-Methoxybenzamidomethyl-D, L-norfenefrin	10	$C_{17}H_{20}N_2O_3$	352,7	124	Ber. 64,65 6,67 8,82 Gef. 64,50 6,43 8,70
X	Diphenylacetamidomethyl-D(-)-norephedrin · HCl	65	$C_{24}H_{28}N_2O_3 \cdot HCl$	410,9	155	Ber. 70,12 6,61 6,81 Gef. 70,62 6,70 6,79
IX	Diphenylacetamidomethyl-D, L-norfenefrin · HCl	15	$C_{23}H_{24}N_2O_3 \cdot HCl$	412,9	166	Ber. 67,06 6,11 6,78 Gef. 67,12 5,96 6,43
VIII	Diphenylacetamidomethyl-D, L-noradrenalin · HCl	5	$C_{23}H_{24}N_2O_3 \cdot HCl$	428,9	168	Ber. 64,43 5,88 6,53 Gef. 64,80 5,62 6,32

N M R - Spektren (-Skala; TMS)

- Subst. XIV (CD_3OD) 1,87 - 2,73 (m, 10 arom. H);
 4,66 (d, $J = 3$ Hz, CH-OH); 5,10 (s, $\text{N-CH}_2\text{-N}$);
 6,30 (o, $J_1 = 7$ Hz, $J_2 = 3$ Hz, CH-CH_3); 8,83 (d, $J = 7$ Hz, CH_3).
- Subst. XX (DMSO) 2,3 - 2,8 (m, 9 arom. H);
 6,63 (d, $J = 3$ Hz, CH-OH); 5,20 (d, $J = 6$ Hz, $\text{N-CH}_2\text{-N}$);
 5,87 (q, $J = 7$ Hz, O-CH_2); 6,40 (breites Signal, CH-CH_3);
 8,63 (t, $J = 7$ Hz, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$); 8,97 (d, $J = 7$ Hz, CH-CH_3).
- Subst. XI (CD_3OD) 1,85 - 3,3 (m, 9 arom. H);
 5,03 (nicht aufgelöstes Signal, Ar-CH-OH); 5,57 (s, $\text{N-CH}_2\text{-N}$);
 6,37 (d, $J = 4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}$).
- Subst. XII (CD_3OD) 2,45 - 3,40 (m, 8 arom. H);
 (Base) 5,3 (breites Signal, Ar-CH-OH); 5,53 (d, $J = 3$ Hz, $\text{N-CH}_2\text{-N}$);
 6,17 (s, OCH_3); 7,1 (breites Signal, $\text{CH}_2\text{-CH}$).
- Subst. XIII (CD_3OD) 2,5 - 3,5 (m, 8 arom. H);
 (Base) 5,33 (t, $J = 4$ Hz, CH-OH); 5,60 (s, $\text{N-CH}_2\text{-N}$);
 5,93 (q, $J = 7$ Hz, O-CH_2); 7,0 - 7,2 ($\text{CH}_2\text{-CH}$);
 8,62 (t, $J = 7$ Hz, CH_3).
- Subst. IX (DMSO) 1,9 - 3,4 (m, 14 arom. H); 4,63 (s, Ar-CH-Ar);
 5,0 - 5,5 (CH-OH); 5,80 (s, $\text{N-CH}_2\text{-N}$);
 6,60 (breites Signal, $\text{CH}_2\text{-CH}$).
- Subst. VIII (DMSO) 1,9 - 3,5 (m, 13 arom. H); 4,66 (s, Ar-CH-Ar);
 5,1 - 5,5 (CH-OH); 5,90 (s, $\text{N-CH}_2\text{-N}$);
 4,70 (breites Signal, $\text{CH}_2\text{-CH}$).

4. Synthese der Bis-benzamidomethyl-phenylalkylamine

0,03 Mol Phenylalkylamin und 0,1 Mol Triäthylamin werden in 100 ml Methylenchlorid gelöst. 0,08 Mol des nach 2. erhaltenen N-Chlormethyl-carbonsäure-amids werden in 100 ml Methylenchlorid suspendiert und unter Kühlung und Umschütteln in kleinen Anteilen zu der Aminlösung gegeben. Man läßt einige Stunden stehen. Danach wird der Reaktionsansatz schnell 3 mal mit 20 ml H₂O ausgeschüttelt und die organische Phase sofort über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand in absolutem Äther aufgenommen. Daraus erhält man unter Zusatz von Petroläther die Base oder durch Versetzen mit Äther/HCl das Hydrochlorid.

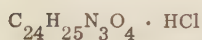
Die Mutterlauge kann nach B auf das mono-amidomethylierte Produkt aufgearbeitet werden.

D, L N, N-Bis-benzamidomethyl-norfenefrin

Herstellung und Aufarbeitung wie unter 4.

Schmp. 132°C

Ausbeute 15 % d. Th.



Ber.: C 68,72 H 6,00 N 10,02

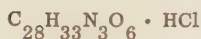
Gef.: C 68,18 H 6,29 N 9,88

D, L N, N-Bis-(3-Äthoxybenzamidomethyl)-norfenefrin

Herstellung und Aufarbeitung wie unter 4.

Schmp. 121°C

Ausbeute 12 % d. Th.



Ber.: C 61,82 H 6,44 N 7,72

Gef.: C 61,71 H 6,44 N 7,63

5. Synthese des Acylierungsproduktes von Cystein

S-3-(3'-Methoxyphenyl)-3-oxo-propyl-cystein (XVII)

10^{-3} Mol Oxyfedrin und 0,35 g (2×10^{-3} Mol) L(+)-Cystein-Hydrochlorid werden in 100 ml sauerstofffreiem Wasser gelöst und auf pH 7,35 eingestellt. Die Lösung wird 24 Stunden bei 37°C aufbewahrt. Anschließend kühlt man 1 Stunde bei 0°C zur vollständigen Kristallisation. Das Produkt wird abgenutscht und mit kaltem Wasser, Chloroform und Äther gewaschen.

Schmp. 158°C

Ausbeute 70 % d. Th.

$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_4\text{S}$ (283,3)

Ber.: C 55,11 H 6,05 N 4,94 S 11,32

Gef.: C 55,22 H 6,12 N 4,88 S 10,98

6. Bestimmung der Dissoziationskonstanten

Die scheinbare Dissoziationskonstante ($p'K_a$) wurde durch Ermittlung des pH-Wertes am Halbneutralisationspunkt aus der Titrationskurve der entsprechenden Substanz bestimmt.

Die Aufnahme der Titrationskurve erfolgte an der Geräteanordnung Titrigraph SBR 2, Titrator TTT 1 und Autobürette ABU 1 der Firma Radiometer.

Es wurden 2×10^{-3} molare wäßrige Lösungen der Hydrochloride unter N_2 -Begasung und Rühren bei $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ titriert. Als Elektroden dienten eine Glaselektrode und eine Kalomelelektrode als Bezugslektrode. Die Ionenstärke μ der Lösungen betrug 0,1 (eingestellt mit KCl).

7. Bestimmung der Hydrolyse

Zur Bestimmung der Hydrolysegeschwindigkeit wurde eine 2×10^{-2} molare wäßrige Lösung der Hydrochloride hergestellt und bei $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ gelagert. Von dieser Stammlösung wurden 5 ml entnommen, mit Äthanol auf 50 ml verdünnt und mit 0,1 N NaOH potentiometrisch titriert. (Die genaue Versuchsanordnung siehe: F II 6.) Diese Titrationen wurden je nach Zerfallsgeschwindigkeit im Abstand von 0,5, 1, 6, 12, 24 und 48 Stunden wiederholt. Das Verhältnis von zersetzter zu unzersetzter Substanz wurde aus der Kurve direkt abgelesen und die Werte gegenüber der Zeit in ein Koordinatensystem eingetragen.

III. OXAZOLIDINE DES NORFENEFRINS

1. Synthese der Azomethine

0,01 Mol Norfenefrin wird in 10 ml Äthanol gelöst. Danach werden bei Raumtemperatur 0,013 Mol frisch destillierter Aldehyd, in wenig Äthanol gelöst, unter Rühren hinzugefügt. Nach etwa 30 Minuten bildet sich ein kristalliner Niederschlag, der nach 24 Stunden abgesaugt und mit wenig Äther nachgewaschen wird. Die Umkristallisation erfolgt aus Äthanol. Mittels der Untersuchung im Fließmittelsystem III wird auf quantitative Umsetzung und Reinheit des isolierten Produkts geprüft. Die Ausbeuten liegen nach der Umkristallisation bei 80 %.

Nähere Daten siehe Tab. 17.

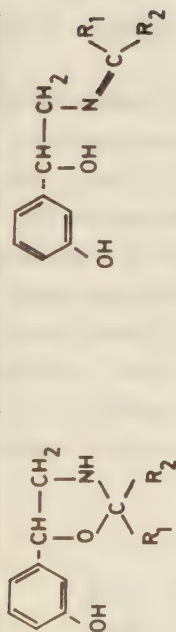
2. Synthese der Oxazolidine

a) 0,01 Mol Norfenefrin wird in 10 ml Äthanol gelöst. Zu der heißen Lösung werden 0,013 Mol des Aldehyds oder des Ketons zugesetzt. Anschließend erhitzt man 3 Stunden am Rückfluß. Danach wird das Lösungsmittel im Vakuum eingeeengt und der Rückstand im Kühlschrank zur Kristallisation gebracht. Die Kristalle werden abgesaugt, mit Äther nachgewaschen und aus Äthanol umkristallisiert. Die Untersuchung auf quantitative Umsetzung und auf Reinheit des erhaltenen Produkts erfolgt mittels des im Fließmittelsystem III. Die Ausbeuten liegen bei 70 %.

b) 0,01 Mol des nach 1 erhaltenen Azomethins werden in 10 ml Äthanol 2 Stunden am Rückfluß erhitzt. Das entstandene Oxazolidin wird nach 2 a aufgearbeitet.

Nähere Daten siehe Tab. 17.

Tab. 17: Angaben zur Synthese der Azomethine und Oxazolidine



Nr.	R ₁	R ₂	Formel	Mol.-Gew.	Schmp. °C Base	Schmp. °C HCl-Salz	C Ber.	H Ber.	N Ber.	Gef.
Oxazolidine										
XL	CH ₃	CH ₃	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	193, 3	235	234	68, 35	7, 82	7, 22	7, 16
XXXIV ^a	-	H	C ₁₅ H ₁₅ NO ₂	241, 3	220	237	74, 70	6, 33	5, 83	5, 59
XXXV ^a	-	H	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271, 3	205	180	70, 84	6, 33	5, 26	5, 42
XXXVI ^a	-	H	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301, 3	180 - 181	250	67, 82	6, 41	4, 78	4, 68
Azomethine										
XXXIV	-	H	C ₁₅ H ₁₅ NO ₂	241, 3	147	-	74, 70	6, 33	5, 83	5, 65
XXXV	-	H	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271, 3	120	145	70, 84	6, 33	5, 26	5, 08
XXXVI	-	H	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	301, 3	130	145	67, 82	6, 41	4, 78	4, 91
XXXVII	-	H	C ₁₅ H ₁₄ ClNO ₂	275, 7	170	253	65, 33	5, 13	5, 32	5, 32
XXXVIII	-	H	C ₁₅ H ₁₃ Cl ₂ NO ₂	310, 2	153	232	58, 13	4, 21	4, 08	4, 38
XXXIX	-	H	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₄	286, 3	160	235	62, 95	4, 97	9, 81	9, 53

IV. D, L-2-AMINO-1-(3'-HYDROXY-4'-ALKYLAMINOMETHYLPHENYL)-
ÄTHAN-1-OL-DERIVATE

1. Synthese des N-Phthalyl-norfenefrin (XLI)

0,05 Mol Norfenefrin werden zusammen mit 0,05 Mol N-Carbäthoxyphthalimid und 15 g $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ in 160 ml Wasser bei 20°C 2,5 Stunden geschüttelt. Danach wird abgenutscht und das feuchte Präparat aus Äthanol umkristallisiert.

Schmp. 165°C

Ausbeute 70 % d. Th.

$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{NO}_4$ (283,3)

Ber.: C 67,92 H 4,63 N 4,92

Gef.: C 67,58 H 4,71 N 4,78

2. Synthese des D, L N-Phthalyl-2-amino-1-(3'-hydroxy-4'-diäthylaminomethylphenyl)-äthan-1-ol (XLIV)

A. 0,033 Mol Paraformaldehyd werden mit einer Spur KOH in heißem Äthanol depolymerisiert. Nach dem Abkühlen werden 0,033 Mol Diäthylamin zugesetzt. Nach 10 Minuten fügt man 0,03 Mol N-Phthalylnorfenefrin dazu und erhitzt 2 Stunden am Rückfluß. Danach wird das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand in 5 %iger Salzsäure aufgenommen und 3 mal mit Äther ausgeschüttelt. Anschließend alkalisiert man mit NH_4OH . Die freie Base wird mit Äther erschöpfend extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden getrocknet und am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit wenig absolutem Methanol aufgenommen, mit Äther/HCl versetzt und bis zur beginnenden Trübung absoluter Äther zugefügt. Die erhaltenen Kristalle werden aus Äthanol umkristallisiert. Reinheitskontrolle mittels dc-Untersuchung in FM I.

Schmp. $216-218^\circ\text{C}$

Ausbeute 50 % d. Th.

$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot \text{HCl}$

Ber.: C 62,73 H 6,32 N 6,95

Gef.: C 62,42 H 6,25 N 6,99

B. Aus dem analogen Benzoxazin (siehe 3) durch Kochen mit verdünnter HCl und anschließender Aufarbeitung wie unter A.

D, L N-Phthalyl-2-amino-1-(3'-hydroxy-4'-isopropylamino-methylphenyl)-äthan-1-ol (XLIII)

Herstellung und Aufarbeitung erfolgt wie bei Subst. XLIV.

Schmp. 221 - 223°C

Ausbeute 35 % d. Th.

$C_{20}H_{22}N_2O_4 \cdot HCl$

Ber.: C 61,44 H 5,93 N 7,17

Gef.: C 61,02 H 5,78 N 7,22

D, L N-Phthalyl-2-amino-1-(3'-hydroxy-4'-cyclohexylamino-methylphenyl)-äthan-1-ol (XLII)

Herstellung und Aufarbeitung erfolgt wie bei Subst. XLIV.

Schmp. 220 - 223°C

Ausbeute 50 % d. Th.

$C_{23}H_{26}N_2O_4 \cdot HCl$

Ber.: C 64,12 H 6,52 N 6,51

Gef.: C 64,02 H 6,38 N 6,38

3. Synthese der 2H-1,3-Benzoxazine

D, L 3-Cyclohexyl-7-(1'-hydroxy-2'-phthalylaminoäthyl)-2H-1,3-benzoxazin (XLII_a)

A. 0,033 Mol Paraformaldehyd werden mit einer Spur KOH in Äthanol heiß depolymerisiert. Nach dem Abkühlen werden 0,033 Mol Cyclohexylamin zugesetzt. Nach 10 Minuten fügt man 0,03 Mol N-Phthalylnorfenefrin dazu und erhitzt 2 Stunden am Rückfluß. Danach werden weitere 0,033 Mol Paraformaldehyd nach der Depolymerisation zugesetzt und 2 Stunden am Rückfluß erhitzt. Es wird heiß filtriert, am Rotationsverdampfer stark eingeeengt und durch Animpfen zur Kristallisation gebracht. Die Umkristallisation erfolgt aus heißem Äthanol.

Schmp. 165-168^oC

Ausbeute 40 % d. Th.

C₂₄H₂₆N₂O₄ (406, 2)

Ber.: C 70,92 H 6,40 N 6,89

Gef.: C 71,01 H 6,40 N 6,72

B. 0,03 Mol Base des analogen Aminomethylierungsprodukts werden mit 0,033 Mol einer Lösung von Paraformaldehyd in Äthanol 2 Stunden am Rückfluß erhitzt. Danach wird filtriert, eingeeengt und durch Animpfen zur Kristallisation gebracht.

Ausbeute 85 % d. Th.

D, L 3-Isopropyl-7-(1'-hydroxy-2'-phthalylaminoäthyl)-2H-1,3-benzoxazin (XLIII_a)

Herstellung und Aufarbeitung wie bei Subst. XLII_a.

Schmp. 123^oC

Ausbeute 40 % d. Th.

C₂₁H₂₂N₂O₄ (366, 2)

Ber.: C 61,43 H 5,92 N 7,28

Gef.: C 61,28 H 5,82 N 7,09

4. Hydrazinolytische Abspaltung der Phthalylschutzgruppe

0,01 Mol von Subst. LXII, LXIII od. LXIV wird in CHCl_3 /Dioxan gelöst. Dazu werden 0,025 Mol Hydrazin gegeben. Nach einer Stunde Erhitzen am Rückflußkühler wird das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand mit 60 ml 2N-HCl versetzt und 15 Minuten bei 50° auf dem Wasserbad belassen. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird vom ausgefallenen Phthalsäureringshydrazid abgenutscht, das Filtrat mit conc. Kalilauge auf pH 6 eingestellt und mit Ammoniak alkalisiert. Das Phenoläthanolaminderivat wird mit Butanol extrahiert, das Lösungsmittel über Na_2SO_4 getrocknet und abgezogen. Der Rückstand wird in wenig absolutem Methanol aufgenommen, mit Äther/HCl versetzt und bei -60 bis -70°C in einer Kältemischung mit absolutem Äther bis fast zur beginnenden Trübung versetzt. Bei langsamem Temperaturanstieg und Anreiben kristallisiert das Endprodukt aus.

Durch Hydrazinspaltung gewonnene Substanzen:

D, L 2-Amino-1-(3'-hydroxy-4'-diäthylaminomethyl-phenyl)-äthan-1-ol · 2 HCl (XLIV_b)

Schmp. $209-210^\circ\text{C}$

Ausbeute 50 % d. Th.

$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 2 \text{HCl}$

Ber.: C 50,00 H 7,75 N 8,97

Gef.: C 49,88 H 7,82 N 8,91

NMR (CD_3OD ; τ -Skala) 2,43-3,06 (m, 3 arom. H);

5,03 (t, $J = 5 \text{ Hz}$, $\text{Ar}-\underline{\text{CH}}-\text{OH}$); 5,66 (s, $\text{Ar}-\text{CH}_2-\text{N}$); 6,5-7,1 (3 $\text{N}-\text{CH}_2$);

8,63 (t, $J = 7 \text{ Hz}$, 2CH_3).

D, L 2-Amino-1-(3'-hydroxy-4'-isopropylaminomethyl-phenyl)-äthan-1-ol · 2 HCl (XLIII_b)

Schmp. 213⁰ C

Ausbeute 50 % d. Th.

C₁₂H₂₀N₂O₂ · 2 HCl

Ber.: C 48,49 H 7,46 N 9,43

Gef.: C 48,25 H 7,77 N 9,10

NMR (DMSO; τ -Skala) 2,37-3,2 (m, 3 arom. H);
 5,20 (breites Signal, Ar-CH-OH); 5,93 (s, Ar-CH₂-N);
 6,80 (breites Signal, CH-CH₃); 7,1 (breites Signal, CH₂-N);
 8,70 (d, J = 7 Hz, 2CH₃).

D, L 2-Amino-1-(3'-hydroxy-4'-cyclohexylaminomethyl-phenyl)-äthan-1-ol · 2 HCl (XLII_b)

Amorphes Pulver

C₁₅H₂₄N₂O₂ · 2 HCl

Ausbeute 70 % d. Th.

Ber.: C 53,46 H 7,81 N 8,35

Gef.: C 52,89 H 7,46 N 8,02

V. CHROMATOGRAPHISCHE METHODEN

Verwendete Fließmittelsysteme (FM)

FM I: Methanol / Chloroform / Cyclohexan / 25 % Ammoniak

(30 : 50 : 30 : 5)

FM II: Chloroform / Cyclohexan / Eisessig

(60 : 30 : 10)

FM III: Methanol / 25 % Ammoniak

(95 : 5)

Verwendetes Trägermaterial

DC-Fertigplatten Kieselgel F₂₅₄ der Fa. Merck, Darmstadt

Detektionsmittel

Ninhydrinlösung (2 g Ninhydrin, 30 ml 20 %ige Essigsäure, 970 ml Isopropanol)

Jod-Jodkali-Lösung

UV₂₅₄

VI. PHARMAKOLOGISCHE TESTUNGEN

1. Prüfung auf Spasmolyse am isolierten Darm

a) Kumulative Dosis-Wirkungskurven mit ACH und Histamin

Die Versuche erfolgten am isolierten Jejunum der Ratte (ACH-Spasmus) bzw. am isolierten Ileum des Meerschweinchens (Histamin-Spasmus). Dazu wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet, das Darmstück herauspräpariert und mit Tyrodelösung gespült. Ein etwa 3 bis 4 cm langes Darmstück wurde an beiden Enden abgebunden und in ein mit Tyrodelösung gefülltes Organbad bei 35° eingehängt. Die Tyrodelösung enthielt: 8,0 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,2 g CaCl₂, 0,1 g MgCl₂, 1,0 g NaH₂PO₄ und 1,0 g Glukose je 1000,0 ml Aqua dest. Die Lösung wurde mit Carbogen gesättigt.

Die Registrierung der Tonusänderung erfolgte isometrisch. Das Spasmogen wurde dem Organbad in einer geometrisch ansteigenden Konzentrationsreihe zugesetzt. Der Darm wurde zu Beginn durch wiederholtes Spülen mit Tyrodelösung an die Badflüssigkeit adaptiert und mit einer mittleren Acetylcholidosis auf seine Empfindlichkeit geprüft.

Die Dosiswirkungskurven wurden durch Messen der Kontraktionshöhen und Umrechnen in relative Werte der maximalen Kontraktionshöhe aufgestellt. Nach Registrierung der ungehemmten Dosis-Wirkungsbeziehung wurde mit Tyrodelösung bis zur völligen Entspannung mehrmals gespült. Dann wurde der Hemmstoff dem Organbad beigegeben und anschließend das Acetylcholin erneut in der oben angegebenen Konzentrationsreihe zugefügt.

Von jeder Hemmstoffkonzentration wurden jeweils 6 Versuche an 3 Darmpräparaten gemacht und der arithmetische Mittelwert bestimmt.

b) Hemmung des BaCl_2 -Spasmus

Die Präparierung, Einbringung in das Tyrodebad und die Registrierung erfolgte wie unter 1 a beschrieben. Anschließend wurden der Badflüssigkeit wiederholte Dosierungen des Spasmogens (für $\text{ACH} = 0,75 \times 10^{-7} \text{ M/l}$; für $\text{BaCl}_2 = 2 \times 10^{-5} \text{ M/l}$) bis zur Erreichung der maximalen Kontraktion zugesetzt. Danach wurde die Tyrodelösung gewechselt und die Vollständigkeit der Entspannung des Darmes abgewartet. Hierauf wurde der Badflüssigkeit eine Dosis des Spasmogens wie oben zugesetzt. Die Kontraktion sollte 50 bis 70 % der Maximalhöhe erreichen. Weniger empfindliche Darmstücke wurden verworfen. Nach der Überprüfung auf Reproduzierbarkeit der Spasmusstärke und völliger Erschlaffung des Darmstückes, wurde der Hemmstoff dem Darmbad zugesetzt und anschließend das Spasmodogen in der oben genannten Dosierung hinzugegeben.

Gemessen wurden die Kontraktionshöhen nach dem Hemmstoffzusatz und diese in relative Werte der ungehemmten Spasmusstärke umgerechnet.

Für jede Hemmstoffkonzentration wurden 6 Einzelwerte ermittelt, davon der Mittelwert berechnet und die Standardabweichung bestimmt. Die Ergebnisse wurden außerdem auf ihre Signifikanz geprüft.

2. Prüfung auf mydriatische Wirkung

Die Prüfung erfolgte nach Pulewka (10) an weiblichen Mäusen, deren Gewicht zwischen 20 und 25 g lag. Die Versuche wurden in einem abgedunkelten Raum, der von einer gleichbleibenden Lichtquelle erleuchtet war, durchgeführt. Gemessen wurde die Pupillenerweiterung nach i. p. Injektion des Wirkstoffes. Die Pupillengröße wurde unter einem Präpariermikroskop mit Okularmikrometer bestimmt. Als Maß der Wirkung wurde der Quotient aus Pupillenweite, gemessen in mm, nach Wirkstoffgabe zur Pupillenweite am unbehandelten Tier errechnet.

Da vergleichbare Resultate nur zu erzielen waren, wenn mit einer submaximalen Dosis gearbeitet wurde, stellten wir eine Dosis-Wirkungskurve mit Atropin auf, zu der die neuen Substanzen ins Verhältnis gesetzt werden sollten. Für die Dosis-Wirkungskurve testeten wir je 10 Tiere für 6 verschiedene Dosierungen. Die Dosierungen betrugen: 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 μg pro 25 g Maus. Die Pupillenweite wurde vor der Injektion, bis 1 Stunde nach der Injektion alle 10 Minuten und darauf nach 90 und 120 Minuten abgelesen. Die ermittelten Werte sind in der Abb. 21 wiedergegeben.

Die zu testenden Substanzen wurden in folgenden Dosierungen verabreicht: 0,323, 0,645, 1,290, 2,580 mg pro 25 g Maus. Für jede Dosierung wurden 6 Mäuse verwendet. Die Testung erfolgte wie oben beschrieben.

Die gefundenen Werte wurden gemittelt, davon die Standardabweichung und die Signifikanz nach dem t-Test von Student errechnet.

3. Prüfung auf Herzwirksamkeit am Meerschweinchen-herzen

Das Tier wurde durch Nackenschlag getötet und das Herz nach Hildebrandt präpariert (42). Vor der Loslösung aus dem Körper wurde das Herz durch Einbinden einer Kanüle in die V. cava caudalis mit körperwarmer Ringerlösung für Warmblüter (NaCl 9,5 g, KCl 0,2 g, CaCl_2 0,12 g, NaCO_3 0,1 g, Glukose 1,0 g, Aqua dest. ad 1000,0 ml, mit O_2 gesättigt) durchspült, damit keine Blutrückstände die anschließende Durchströmung behindern konnten.

Die Durchströmung des Herzens erfolgte nach einer modifizierten Langendorff-Anordnung, bei der der Wirkstoff kurz oberhalb der Aorta mit einer Kanüle der Ringerlösung zugesetzt wird. Die Temperatur wurde auf 35°C konstant gehalten. Der Durchströmungsdruck betrug zwischen 40 - 50 mm Hg. Registriert wurde die Kontraktion der Ventrikel über einen Seitenschreibhebel auf einer Rußtrommel, dazu über einen Ordinatenschreiber mit Hilfe eines Tropfenzählers die jeweilige coronare Durchflußmenge.

Die Herzen wurden jeweils eine halbe Stunde lang beobachtet, bis die Frequenz und die Kontraktionshöhe einen konstanten Wert erreichten. An einem Herz wurde nur eine Substanz in Dosierungen von 5 bis 250 μg getestet.

4. Prüfung auf Blutdruckwirkung

a) Blutdruck der Katze

Das Tier wurde mit 75 mg Chloralose und 375 mg Urethan pro kg Katze in Narkose gesetzt. Der Blutdruck wurde durch Einbinden einer Kanüle, die mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt war, in die A. carotis über ein Hg-Manometer mechanisch gemessen. Zur Verhinderung der Blutgerinnung wurde Heparin zugesetzt. Die Druckregistrierung erfolgte am Rußkymographion mit Zeiteinteilung. Gleichzeitig wurde die Herzfunktion über ein EKG-Gerät überwacht. Die Injektion der zu untersuchenden Substanzen erfolgte in die V. femoralis.

Vor Versuchsbeginn wurde jeweils eine Dosis des chemisch noch nicht abgewandelten pressorisch wirkenden Amins gegeben, die eine Blutdrucksteigerung um etwa 40 mm Hg hervorrief.

Hierauf wurde die Testsubstanz mit steigender Dosierung gegeben. Die höchste Dosis betrug das 100-fache der äquivalenten Menge des pressorischen Ausgangsamins. Um eine Speicherung des Amins im chromaffinen Gewebe zu verhindern, wurden die Versuche auch an Tieren, die mit 3 mg/kg Cocain vorbehandelt waren, unternommen.

b) Blutdruck der Ratte

Der Blutdruck an der Ratte wurde über ein Statham-Element, das mit der A. femoralis über ein Kunststoffkatheter verbunden war, elektronisch registriert. Für die Narkose wurde Inactin[®] (80 mg/kg Ratte) verwendet. Die Applikation der Testsubstanzen erfolgte über eine Magen-Schlundsonde. Nach vorheriger Gabe der Ausgangssubstanzen wurden die Testsubstanzen bis zu einer 300-fach äquivalenten Menge gegeben.

5. Prüfung auf analgetische Wirkung

Die Untersuchung der Substanzen auf ihre analgetische Wirkung wurde an Mäusen mit der hot-plate-Methode vorgenommen. Diese Methode ist bei Lembeck u. Winne (44) beschrieben. Dabei wurden Mäuse auf eine heiße Platte von 56°C gesetzt. Es wurde die Reaktionszeit, die vom Berühren der Platte bis zum Lecken der Pfoten oder Davonspringen verstrich, bestimmt. Sie wurde vor und nach Gabe des Pharmakons je zwei mal gemessen.

Zur Auswertung wurden die Mittelwerte der Reaktionszeiten miteinander verglichen.

6. Prüfung auf Antiparkinson-Wirkung (Oxotremorintest)

Die Testung wurde nach der bei Jenden (45) beschriebenen Methode an weißen Mäusen durchgeführt. Dazu wurden Dosis-Wirkungsbeziehungen von Oxotremorin erstellt. Die Applikation erfolgte i. v. in die Schwanzvene. Durch steigende Dosen bei je 4 Mäusen wurde die Mindestmenge festgestellt, die einen 5 - 10-minütigen Dauertremor hervorrief. Sie lag bei 180 µg/kg Maus.

Es wurden Gruppen von je 7 Tieren gebildet, die mit der Testsubstanz i. p. gespritzt wurden. Eine Kontrollgruppe erhielt lediglich das substanzfreie Lösungsmittel gespritzt.

Zehn Minuten nach Applikation der zu prüfenden Substanzen wurde 180 µg Oxotremorin pro kg Maus gegeben.

Die Auswertung erfolgte nach dem 3 Punkte System: 3 Punkte für Dauertremor, 2 Punkte unterbrochener Tremor, 1 Punkt für schwach auftretenden Tremor. Die Einordnung wurde von einem neutralen Beobachter vorgenommen.

Als Bezugs- bzw. Vergleichssubstanz diente als Antitremor-wirksames Mittel Akineton® (1-Bicycloheptenyl-1-phenyl-3-piperidino-propanol(1)) als Lactat.

7. Prüfung auf carcinostatische Wirkung

a) Bestimmung der Toxizität

Als Versuchstiere dienten männliche Ratten des Stammes BD II und BD VIII mit einem Gewicht von 150 - 200 g.

Die Bestimmung der mittleren letalen Dosis DL_{50} (1) erfolgte bei den Substanzen durch einmalige i. p. Gabe einer frisch hergestellten Anreibung in Speiseöl.

Die Tiere wurden mindestens 21 Tage beobachtet und nach dem Spontanod seziert, um Todesursachen wie Verletzungen usw. auszuschließen.

Ermittelt wurde die DL_{50} (1) jeweils aus der Regressionsgeraden im Wahrscheinlichkeitsnetz.

b) Prüfung am Yoshida-Sarkom der Ratte

Als Versuchstiere wurden 150 - 200 g schwere männliche Ratten des Stammes BD II verwendet. Zur Verimpfung kam 7 Tage altes Yoshida-Ascites-Sarkom. Von dem unter sterilen Bedingungen entnommenen Ascites wurden 0,1 ml unverdünnt subkutan unter die Rückenhaut injiziert. Für jede Substanz wurden 8 erbreine Ratten und ebenso viele Kontrolltiere verwendet. Die Therapie begann nach 24 Stunden durch einmalige Gabe von 50 % der DL_{50} der jeweiligen Substanz. Nach 7 Tagen wurden die Tiere getötet, die Tumoren herauspräpariert und gewogen. Die Auswertung erfolgte im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren.

8. Methodik der mikrobiologischen Testung

Die Testung auf Bakteriotase bzw. Fungistase erfolgte an verschiedenen pathogenen und apathogenen, grampositiven und gramnegativen Keimen bzw. den Erregern verschiedener Mykosen. Die einzelnen Stämme sind der Tabelle auf S. 73 zu entnehmen.

a) Nährmedium

Es wurde das von J. Holzheu-Eckardt (46) angegebene Nährmedium folgender Zusammensetzung verwendet:

20,0 g Glucose
 10,0 g Pepton e carne ("Merck")
 1,0 g Hefeextrakt
 5,0 g Natriumchlorid
 20,0 g Agar
 1000,0 g dest. Wasser

Das Nährmedium ist für Pilze und Bakterien geeignet. Es wurde für die Testung auf Fungistase und Bakteriotase benutzt. Der Nährboden wurde mit Salzsäure bzw. Natronlauge auf pH 6-7 eingestellt.

b) Testung auf Fungistase

Es wurde das von H. Schönenberger (47) beschriebene Verfahren des Plattenmischtestes verwendet. Die Verbindungen kamen in einer Verdünnungsreihe mit dem Faktor $1/2$ von 1000 μg bis 31 μg zur Anwendung. Wasserunlösliche Substanzen wurden in höchstens 2 ml Dimethylformamid gelöst. Die Verdünnungsreihen wurden mit verflüssigtem (40°), sterilisiertem Nährboden hergestellt.

Nach Überprüfung der Sterilität erfolgte die Beimpfung mit einer Suspension der Pilzstämmen. Die Pilzsuspensionen wurden durch Aufschwemmen einer 7 Tage alten Sabouraud-Schrägagarkultur, die bei 30°C angezüchtet war, mit 5 ml physiologischer Kochsalzlösung gewonnen. Die Hälfte einer Testplatte wurde mit 0,02 ml einer Keimsuspension beimpft. Der Vergleich erfolgte mit Kontrollplatten ohne Substanzzusatz. Bebrütet wurde bei einer Temperatur von 30°C. Die Ablesung und der Vergleich mit den Kontrollplatten wurde in regelmäßigen Abständen erstmals nach 2 Tagen und dann täglich bis zum 15. Tag vorgenommen.

c) Testung auf Bakteriostase

Die Prüfung auf Bakteriostase erfolgte ebenfalls nach dem Plattenmischverfahren. Zur Anzüchtung der Bakterien wurden die Keime von Schrägagarröhrchen auf Pepton-Nährbouillon übertragen und 20 Stunden bei einer Temperatur von 37°C bebrütet. Zur Überimpfung kamen auf den 6. Teil einer Testplatte 0,01 ml einer mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 100 verdünnten Bakterienlösung. Die Bebrütung erfolgte bei einer Temperatur von 37°C. Das Wachstum der Bakterien wurde ebenfalls mit Kontrollplatten, die keine Testsubstanzen enthielten, verglichen. Die Ablesung erfolgte nach 24 und 48 Stunden.

Die in den Tabellen angegebenen Werte stellen die Grenzkonzentration für die absolute Wachstumshemmung dar.

G. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden 10 N-Diphenylacetamidomethyl-trialkylammonium-jodide durch Umsetzung von Diphenylacetamid mit Paraformaldehyd und dem entsprechenden sekundären Amin zum tertiären Aminal und anschließender Quartärnierung mit Alkyljodid synthetisiert. Bei der Prüfung am ACH erregten Jejunum der Ratte zeigten diese Verbindungen ausgeprägte spasmolytische Eigenschaften. Im Verlauf der homologen Reihe wurde ein Übergang vom kompetitiven zum nichtkompetitiven Hemmtyp mit steigender Kettenlänge beobachtet, wobei die Reihe bei mittlerer Kettenlänge ein Wirkungsminimum durchläuft. Die spasmolytischen Eigenschaften der pharmakologisch interessantesten Substanz, N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyldecyl-ammonium-jodid (I_1), erreichten 40 % der Atropin- und das 20-fache der Papaverin-Wirkung. In derselben Größenordnung wie am ACH-Spasmus liegen die lytischen Eigenschaften gegenüber dem $BaCl_2$ - und dem Histamin-Spasmus.

Neben der spasmolytischen Hauptwirkung zeigen N-Diphenylacetamidomethyl-trialkylammonium-jodide eine mydriatische Wirkung, die jedoch mit zunehmender Kettenlänge abnimmt und schließlich ab I_f nicht mehr nachweisbar ist. Der Wechsel vom kompetitiven zum nichtkompetitiven Hemmtyp und die zur kompetitiven Hemmung parallel verlaufende mydriatische Wirkstärke wird mit dem Übergang von einer überwiegenden Ionenbeziehung zu einer rein hydrophoben Wechselwirkung zwischen Wirkstoff und Rezeptor erklärt. Dabei zeigt sich, daß die Ionenbeziehung für die mydriatische Nebenwirkung, nicht jedoch für die spasmolytischen Eigenschaften, essentiell ist.

Versuche auf Antiparkinson-Wirkung und auf analgetische Eigenschaften brachten negative Ergebnisse.

Die Prüfung auf antimikrobielle und tumorhemmende Wirkung ergab lediglich bei den längerkettigen Verbindungen eine mit steigender Kettenlänge zunehmende antimikrobielle Wirkung.

Die Verbindung N-Diphenylacetamidomethyl-dimethyldecyl-ammonium-jodid ist aufgrund ihrer optimalen Wirkung am ACH-, BaCl_2 - und Histamin-Spasmus und wegen fehlender mydriatischer und zentraler Nebenwirkungen von besonderem therapeutischen Interesse.

In der Gruppe der N-Acylamidomethyl-phenylalkylamine wurden Struktur-Wirkungsstudien mit folgendem Ziel vorgenommen: Entwicklung von Verbindungen mit 1. β -mimetischer, 2. coronardilatierender und 3. langanhaltender blutdrucksteigernder Wirkung.

Die Synthese dieser Verbindungen erfolgte durch Umsetzung der Chlormethyl-carbonsäureamide mit den entsprechenden Aminen. Die Prüfung auf β -mimetische und coronardilatierende Wirkung wurde am Meerschweinchen-Herzen nach Langendorff vorgenommen, die Beeinflussung des Blutdrucks an der Katze und der Ratte geprüft. Unter den getesteten Verbindungen zeigten 6 schwache positiv inotrope bzw. coronardilatierende Eigenschaften, die jedoch im Vergleich zu Oxyfedrin nur unbedeutend sind. Die geringere Wirkung wird mit der schwächeren Basizität der Acylamidomethyl-phenylalkylamine erklärt. Das Fehlen der blutdruck erhöhenden Eigenschaften konnten wir auf die zu geringe Zerfallsgeschwindigkeit der Verbindungen unter physiologischen Bedingungen zurückführen. Gleichartige Versuche mit Oxazolidin- und Azomethin-Derivaten des Norfenefrins ergaben nur bei den Azomethinen blutdrucksteigernde Effekte, eine langanhaltende Wirkung konnte jedoch nicht beobachtet werden.

2-Amino-1-(3'-hydroxy-4'-alkylaminomethylphenyl)-äthan-1-ol-Derivate wurden mit dem Ziel, zu einem neuen Typ α -mimetischer Verbindungen zu gelangen, synthetisiert.

Ihre Herstellung erfolgte durch Aminomethylierung von N-Phthalylnorfenefrin und anschließender hydrazinolytischer Spaltung. Die Verbindungen sind aufgrund ihrer α -Amino-o-kresol-Struktur ähnlich wie Katecholamine zur Komplexbildung mit Metallionen befähigt, eine wichtige Voraussetzung für das Auftreten α -mimetischer Eigenschaften.

H. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) T. BASTUG, Dissertation, Universität München, 1969
- 2) F. SCHMIDT, Dissertation, Universität München, 1970
- 3) L. BINDL, Dissertation, Universität München, 1970
- 4) D. ADAM, Dissertation, Universität München, 1967
- 5) P. LIPPERT, Dissertation, Universität München, 1970
- 6) E. SCHLAGER, Schweiz. Apotheker-Ztg. 102, 617 (1964)
- 7) J. M. VAN ROSSUM u. VAN DEN BRINK, Arch. int. Pharmacodyn. 143, 240 (1963)
- 8) H. LINEWEAVER u. O. BURK, J. Amer. Chem. Soc. 56, 658 (1934)
- 9) M. DIXON, Biochem. J. 55, 170 (1953)
- 10) P. PULEWKA, Arch. exp. Path. u. Pharmacol. 168, 307 (1932)
- 11) A. ENGELHARDT u. H. WICK, Arzneim.-Forsch. 10, 763 (1960)
- 12) I. JURNA, Dtsch. Med. Wschr. 94, 1941 (1969)
- 13) H. HELLMANN u. G. OPITZ, Angew. Chem. 69, 463 (1957)
- 14) G. EHRHARDT/RUSCHIG, Arzneimittel Bd. II 1383 (1968)
- 15) W. SCHOLTAN, Arzneim.-Forsch. 18, 505 (1968)
- 16) G. EHRHARDT/H. RUSCHIG, Arzneimittel Bd. I 39 (1968)
- 17) K. THIELE, U. SCHIMASSEK u. A. von SCHLICHTEGROLL, Arzneim.-Forsch. 16, 1064 (1966)
- 18) J. KRAUTWEIN u. E. SCHMID, Arzneim.-Forsch. 16, 1500 (1966)
- 19) K. THIEMER u. R. STADLER, Arzneim.-Forsch. 16, 1502 (1966)
- 20) S. HABERSANG, F. LEUSCHNER u. A. von SCHLICHTEGROLL, Arzneim.-Forsch. 17, 1478 (1967)
- 21) K. THIEMER et al., Arzneim.-Forsch. 18, 388 (1968)
- 22) K. THIELE, E. KOBERSTEIN u. G. NONNENMACHER, Arzneim.-Forsch. 18, 1255 (1968)
- 23) N. HAHN et al., Arzneim.-Forsch. 19, 300 (1969)
- 24) K. MOSER u. A. LUJF, Arzneim.-Forsch. 19, 305 (1969)
- 25) W. R. KUKOWETZ u. G. PÖCH, Arzneim.-Forsch. 19, 1562 (1969)

- 26) U.KIRSCH et al., *Arzneim.-Forsch.* 19, 1862 (1969)
- 27) C.ARKENAU, A.J.BOSSE u. E.SCHAUM, *Arzneim.-Forsch.* 19, 1828 (1969)
- 28) E.J.ARIENS, *Medicinal Chemistry Vol 3*, 215 (1964)
- 29) R.B.BARLOW, *Introduction to Chemical Pharmacology*, John Wiley and Sons INC New York, 282 (1964)
- 30) J.H.BIEL u. B.K.B.LUM, *Fortschr. d. Arzneimittelforsch.* 10, 46 (1966) Birkhäuser Verlag Basel
- 31) D.D.PERRIN, *Dissociation Constants of Organic Bases in Aqueous Solution*, BUTTERWORTHS, London (1965)
- 32) D.R.BENNET et al., *Pharmacol. Exptl. Therap.* 122, 489 (1958)
- 33) E.J.MORGAN u. E.FRIEDMAN, *Biochem. J.* 32, 733 (1938)
- 34) S.J.SERGIEVSKAYA, C. A. 51, 16432g (1957)
- 35) A.D'AMICO, L.BERTOLINI, C.MONREALE, *La Chimica EL'Industria* XXXVIII 2, 93 (1956)
- 36) L.W.DAASCH u. U.E.HANNINEN, *J. Amer. Chem. Soc.* 72/2, 3673
- 37) E.BERGMANN, E.ZIMKIN u. S.PINCHAS, *Rec. trav. chim. Pays Bas* 71, 180 (1952)
- 38) B.BELLEAU, in "Ciba Foundation Symposium on Adrenergic Mechanism" (J.R.Vane, G.E.W.Wolstenholme and M.O'Connor, eds.) p. 223 Churchill, London
- 39) B.M.BLOOM u. I.M.GOLDMAN, *Adv. in Drug Research*, 3, 121 (1966)
- 40) H.SCHÖNENBERGER u. D.ADAM, *Arch. Pharmacol.*, im Druck
- 41) E.J.ARIENS u. A.M.SIMONIS, *J. Pharm. Pharmacol.* 16, 289 (1964)
- 42) L.MICHAELIS u. M.L.MENTON, *Biochem. Z.* 49, 575 (1913)
- 43) F.HILDEBRANDT, *Handbuch d. biol. Arbeitsmeth.*, Bd.V 8, S. 885
- 44) F.LEMBECK u. D.WINNE, *Pharmacol. Praktikum*, G.Thieme Verlag, Stuttgart, S.43 (1965)
- 45) D.J.JENDEN, *Selected Pharmacol. Testing Meth.*, Marcel Dekker INC, New York, Bd.3, 337 (1968)
- 46) J.HOLZHEU-ECKARDT, *Dissertation*, Universität München, 1961
- 47) H.SCHÖNENBERGER u. J.HOLZHEU-ECKARDT et al., *Arzneim.-Forsch.* 12, 1162 (1962); 13, 936 (1963)
- 48) H.BÖHME et al., *Chem. Ber.* 92, 1599 (1959)

Lebenslauf

Karl, Ernst, Volker
Kühling

geboren am 20. 2. 1938 in Osnabrück als Sohn des
Redakteurs Karl Kühling und seiner Ehefrau
Käthe, geb. Freese

Schulbildung: 1945 - 1949 Volksschule Osnabrück
1949 - 1959 E. M. Arndt Gymnasium Osnabrück

Reifeprüfung: Februar 1959 in Osnabrück

Berufsausbildung:

Praktikantenzeit: 1959 - 1961 Löwen-Apotheke Osnabrück

Pharmazeutisches Vorexamen: März 1961 in Osnabrück

Studium der Pharmazie: SS 1962 - SS 1965, Universität Freiburg

Pharmazeutisches Staatsexamen: Juli 1965

Kandidatenzeit: Pasinger Bahnhofsapotheke, München
St. Michael-Apotheke, München

Bestellung als Apotheker: September 1968

Wissenschaftliche Arbeit: November 1965 bis Juni 1971 unter Anleitung von
Herrn Professor Dr. H. Schönenberger am Insti-
tut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der
Universität München und Herrn Univ.-Doz. Dr.
A. Petter am Institut für Pharmakologie, Toxiko-
logie und Pharmazie der Universität München,
Vorstand: Professor Dr. Dr. h. c. K. Zipf

Berufliche Tätigkeit: November 1966 - September 1967 wissenschaftli-
che Hilfskraft am Institut für Pharmazie und Le-
bensmittelchemie der Universität München. Seit
Oktober 1967 Verwalter einer wiss. Assistenten-
stelle am selben Institut.

Direktoren: Professor Dr. Dr. h. c. E. Bamann
Professor Dr. H. - D. Stachel



